

Efeito do frio artificial na quebra da dormência e produtividade do mirtilo (*Vaccinium corymbosum*)

Catarina Susana de Oliveira Parente

Dissertação para obtenção do Grau Mestre em

Engenharia Agronómica – Hortofruticultura e Viticultura

Orientador: Doutora Cristina Maria Moniz Simões de Oliveira

Co-orientador: Doutor Pedro Nogueira Brás de Oliveira

Júri:

Presidente: Doutor Henrique Manuel Filipe Ribeiro, Professor Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa.

Vogais: Doutor Pedro Nogueira Brás de Oliveira, Investigador Auxiliar do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária;

Doutora Mariana da Silva Gomes Mota, Investigadora Auxiliar do Instituto Superior de Agronomia da Universidade de Lisboa

I. Agradecimentos

Agradeço à Professora Doutora Cristina Oliveira, pelo entusiasmo que me transmitiu desde o primeiro dia pela Fruticultura, e pela orientação, ajuda e preocupação constante ao longo do trabalho.

Ao Doutor Pedro Oliveira, pelos conselhos, esclarecimento de dúvidas, apoio e disponibilidade que revelou em todas as fases do desenvolvimento deste trabalho. A partilha constante de conhecimento revelou-se essencial na execução do mesmo.

Aos meus pais por todo o apoio, carinho e por me inculcarem a educação e a perseverança. A sua ajuda e disponibilidade foi inestimável.

Ao meu irmão por toda a paciência e amor.

Aos amigos que fiz no ISA, um obrigado por todos os momentos inesquecíveis que passámos e que continuaremos seguramente a passar nesta aventura que é a Agronomia.

Ao Miguel por acreditar e transmitir a tranquilidade necessária nos momentos mais conturbados.

À Cristina Candelária não só pela revisão de texto, mas também pela amizade e suporte no difícil ingresso no mundo profissional.

Ao pessoal técnico da Herdade Experimental da Fataca, em especial Anabela Reis e Francisca Loureiro, pelas infindáveis horas de ajuda na preparação dos ensaios e recolha de dados.

À Doutora M^a do Carmo Serrano, da Unidade Estratégica de Investigação e Serviços de Tecnologia e Segurança Alimentar do INIAV, pela ajuda na realização das análises laboratoriais.

À empresa First Fruit, na pessoa de Gijs Hoogendoorn, por disponibilizar as suas instalações e equipamentos essenciais à realização deste trabalho.

Ao Projecto Europeu PF7 EUBerry pelo apoio dado.

À empresa onde trabalho, AGRIVABE – Prod. Agrícola Lda., em particular à Engenheira Paula Pedro e à sua equipa, por possibilitarem a finalização desta dissertação.

Obrigada.

II. Resumo

A antecipação ou o atraso da época de produção de mirtilo poderá ter impacto na sua valorização. Com o objetivo de antecipar a produção para maio, ensaiaram-se cultivares do tipo Southern Highbush (SHB) 'Paloma', 'Star' e 'O'Neal', submetendo as plantas aos tratamentos de frio artificial E1 (648 h) e E2 (480 h). Com o objetivo de atrasar a produção para meados de setembro, testaram-se as referidas e a 'Legacy', 'Elizabeth' e 'Duke' do tipo Northern Highbush (NHB) e os tratamentos (S1 – 2904, S2 – 3288, S3 - 3648 e S4 – 4008 horas de frio). Foi analisado o consumo de amido nas raízes durante o período de dormência.

Comparativamente às plantas não sujeitas a frio artificial, os tratamentos de frio E1 e E2 não permitiram a antecipação da produção e tiveram resultados discrepantes na concentração da produção nas diferentes cultivares.

No segundo ensaio não foi possível atrasar a produção, embora os tratamentos tivessem efeitos positivos na concentração do período de colheita. A produção da 'Duke' (2,6 kg/planta) foi superior ($P < 0,05$) à produção em estufa no tratamento S1.

A concentração de amido nas raízes na 'Elizabeth' e na 'Star' diferiu ($P < 0,05$) entre a entrada e as duas saídas da câmara frigorífica (S3 e S4).

Palavras – chave: horas de frio, manipulação do ciclo vegetativo, mirtilo, SHB, NHB

III. Abstract

The anticipation or the delay of the harvest season of blueberry may have impact on the valuation of production. With the aim of anticipating for mid-May, the production the cultivars Paloma, Star and O'Neal of the Southern Highbush (SHB) type were subjected to the chilling treatments E1 – (648 hours) and E2 (480 hours). With the goal of delaying production for mid-September, in addition to the above mentioned cultivars, 'Legacy', 'Elizabeth' and 'Duke', Northern Highbush (NHB) type were exposed to S1-2904, S2-3288, S3-3648 and S4-4008 chilling hours. The consumption of starch in roots during the dormancy period was analysed.

Compared to plants not subjected to artificial chilling (greenhouse or outdoors treatments), the chilling treatments E1 and E2 did not allow the anticipation of harvest and had distinct results in the concentration of the harvest period of the different cultivars.

The artificial chilling was unable to delay the production, although had a positive effect on the concentration of the harvest period. With the S1 treatment the production of 'Duke' (2.6 kg per plant) was higher ($P<0.05$) compared to greenhouse production.

The concentration of starch in roots of 'Elizabeth' and 'Star' differed ($P<0.05$) between entrance and removals of the plants from the cold chamber (S3 and S4).

Keywords: blueberry, chilling hours, manipulation of the growing cycle, NHB, SHB

IV. Extended abstract

The blueberry is a small fruit with a growing demand, which is linked to health benefits that their consumption causes and to the flavor qualities of the fruits. Given the growing demand, the prices fluctuate according to supply and demand in the market, with a significant appreciation in the so-called off-season period. The anticipation or the delay of the harvest season may have a great impact on the valuation of production.

Currently, the choice of cultivar for cultivation not only is ruled by economic reasons but is also subject to the chilling requirement to bloom, that is, the number of hours below 7 °C that the plant needs to break dormancy. The lack of such exposure results in delayed and substandard foliation, flowering and fruiting.

The greater or lesser need for chilling hours will determine the time at which the plants break dormancy and is crucial to the right development of fruit.

The strongly seasonal characteristics of production in Europe, increases in Portugal, especially in the Southwest Alentejo and Algarve, the opportunity to reduce the non-productive period, and producing blueberries during spring and autumn.

The effect of artificial chilling and subsequent planting at different dates was analysed. In the first experiment, with the aim to anticipate production to mid-May, Southern Highbush (SHB) cultivars 'Paloma' 'Star' and 'O'Neal' were subject to two chilling treatment E1 and E2 (648 and 480 hours of chilling, respectively). In the second trial, with the goal of delaying production to mid-September, we tested the SHB cultivars, 'Paloma', Star 'and' O'Neal', and the Northern Highbush (NHB) cultivars, 'Legacy', 'Elizabeth' and 'Duke' and four chilling treatments, S1, S2, S3, and S4 corresponding to 2904, 3288, 3648 and 4008 hours, respectively. In the second assay, we investigated consumption of starch in the roots during dormancy. All the chilling treatments were compared with witness outside the greenhouse and with the witness inside the greenhouse.

In the trial of anticipating production, 'Paloma', under E2 treatment (480h artificial cold), was the cultivar with the highest production (2.6 kg / plant) although not statistically different from the production of the plants cultivated in the greenhouse. The chilling treatments tested did not allow the anticipation of the harvest season and had different results in the concentration of the harvest period of the different cultivars.

In the second trial, the most productive cultivars were 'Legacy' and 'Duke' (2.6 kg / plant) when the plants were subjected to the treatment S1 (2904 h artificial cold), and for 'Duke', the result was higher ($P < 0.05$) comparing with greenhouse production. S4 treatment proved to be very aggressive and the production was very small. Overall it is concluded that it was

not possible to delay the harvest season, though longer hours of chilling had positive effects on the concentration of the harvest period. The SHB type cultivars, having low chilling requirements did not react well to unnecessary chilling resulting in the fall of the flower buds and in the development vegetative growth.

After analyzing consumption of starch in the roots, it was found that blueberries accumulated fewer reserves comparing with raspberries, and the accumulation and uses of starch reserves may vary between NHB and SHB type cultivars.

The techniques tested in this study indicate that the blueberry cultivation technique in artificial substrate and subjected to artificial chilling is a technique with potential but still at an early stage of study, requiring therefore continued testing with results which make it possible to ascertain more information. It is necessary to test more cultivars and number of chilling hours, especially late cultivars such as 'Aurora' or 'Elliot'.

Keywords: blueberry, chilling hours, manipulation of the growing cycle, NHB, SHB

Índice

I.	Agradecimentos	2
II.	Resumo	3
III.	Abstract	4
IV.	Extended abstract.....	5
V.	Índice de figuras.....	9
VI.	Índice de Quadros	10
1.	Introdução	12
2.	Revisão bibliográfica	13
2.1.	Botânica	13
2.1.1.	Género <i>Vaccinium</i>.....	13
2.1.2.	Tipos de mirtilo cultivados	14
2.1.3.	Melhoramento dos mirtilos	14
2.2.	Morfologia.....	17
2.3.	A importância dos mirtilos em Portugal e no Mundo	18
2.4.	Biologia das plantas	19
2.4.1.	Ciclo biológico	19
2.4.2.	Indução, diferenciação floral e floração	22
2.4.3.	Exigência climáticas	23
2.5.	Hidratos de Carbono	25
2.6.	Tecnologias de produção.....	26
2.6.1.	Cultura protegida.....	26
2.6.2.	Produção em túnel	27
2.6.3.	Produção em substrato	28
3.	Material e métodos	29
3.1.	Localização dos ensaios	29
3.2.	Material vegetal	29
3.3.	Substrato	30
3.4.	Estufa e câmara de frio	31
3.5.	Poda	31

3.6.	Rega e Fertilização	31
3.7.	Tratamentos fitossanitários.....	32
3.8.	Dados climáticos	32
3.9.	Delineamento experimental	32
3.9.1.	Ensaio de produção precoce	32
3.9.2.	Ensaio de produção tardia	33
3.10.	Registo e Observações	34
3.10.1.	Intensidade da poda	34
3.10.2.	Determinação dos estados fenológicos.....	34
3.10.3.	Caracterização dos ramos	34
3.10.4.	Determinação do amido das raízes	34
3.10.5.	Colheita	35
3.11.	Análise Estatística.....	35
4.	Resultados e discussão.....	40
4.1.	Primeiro Ensaio.....	40
4.1.1.	Caracterização biométrica	40
4.1.2.	Fenologia	41
4.1.3.	Produção.....	42
4.2.	Segundo Ensaio.....	46
4.2.1.	Caracterização biométrica	46
4.2.2.	Fenologia	47
4.2.3.	Produção.....	52
4.3.	Teor de amido nas raízes	55
5.	Conclusões	56
5.1.	Primeiro ensaio	56
5.2.	Segundo ensaio	57
6.	Referências bibliográficas	59
	ANEXO I – Tabela ilustrada de estados fenológicos	68
	ANEXO II – Protocolo do Método “Amyloglucosidase/ α -amylase”	70

V. Índice de figuras

Figura 1 - Planta da cv. Legacy antes e depois de se efetuar a poda.....	36
Figura 2 - Panorâmica geral da câmara frigorífica.....	36
Figura 3 - Plantas sob rede de ensombramento após a saída da câmara frigorífica.....	37
Figura 4 - Aspeto da estufa do 2º ensaio.....	37
Figura 5 - Medição do comprimento floral do lançamento.....	38
Figura 6 - Lavagem das raízes e posterior passagem por estufa de secagem.....	38
Figura 7 - Fases do processo de determinação do amido das raízes.....	39
Figura 8 - Fases do processo de determinação da percentagem de humidade das amostras de raízes para o cálculo da matéria seca.....	39
Figura 9 - Produção semanal (g) para a cultivar Paloma nos diferentes tratamentos de frio ensaiados.....	43
Figura 10 - Produção semanal (g) para a cultivar Star nos diferentes tratamentos de frio ensaiados.....	43
Figura 11 - Produção semanal (g) para a cultivar O'Neal nos diferentes tratamentos de frio ensaiados.....	44
Figura 12 - Número de dias decorridos entre estados fenológicos na cv. Legacy. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.....	48
Figura 13 - Número de dias decorridos entre estados fenológicos na cv. Duke. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.....	49
Figura 14 - Número de dias decorridos entre estados fenológicos na cv. Elizabeth. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.....	50

VI. Índice de Quadros

Quadro 1 - Valores médios relativos ao ramo em estudo, do comprimento ocupado por gomos vegetativos (Comprimento Vegetativo), comprimento ocupado por gomos florais (Comprimento Floral), diâmetro da base do lançamento (Diâmetro), número médio de frutos por cacho (Nº frutos), número de gomos vegetativos do lançamento (Nº Gomos Vegetativos) e número de gomos florais do lançamento (Nº Gomos Florais).	40
Quadro 2 - Número de dias decorrentes da floração (F) ao vingamento (V), do vingamento ao fruto maduro (FM) e número total de dias. Tratamentos: testemunha ar-livre (Tar-livre); testemunha estufa (Testufa); Entrada 1 (E1) – frio natural + 648h; e Entrada 2 (E2) – frio natural + 480h.	41
Quadro 3 - Produção total por planta (g) e calibre médio, na interação cultivar x tratamento. Tratamentos: testemunha ar-livre (Tar-livre); testemunha estufa (Testufa); Entrada 1 (E1) – frio natural + 648h; e Entrada 2 (E2) – frio natural + 480h.	42
Quadro 4 - Distribuição e concentração da produção (g). Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Entrada 1 (E1) – frio natural + 648h; e Entrada 2 (E2) – frio natural + 480h. d - dias.....	45
Quadro 5 - Valores médios relativos ao ramo em estudo, do comprimento ocupado por gomos vegetativos (Comprimento Vegetativo), comprimento ocupado por gomos florais (Comprimento Floral), diâmetro da base do ramo (Diâmetro), número médio de frutos por cacho (Nº frutos), número de gomos vegetativos do ramo (Nº Gomos Vegetativos) e número de gomos florais do ramo (Nº Gomos Florais).....	47
Quadro 6 - Número de dias decorrentes da floração (F) ao vingamento (V), do vingamento ao fruto maduro (FM) e número total de dias. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008h.....	51
Quadro 7 - Produção total por planta (g) por tratamento. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648h.....	52
Quadro 8 - Distribuição e concentração da produção (g). Tratamentos: Testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008h.	54
Quadro 9 - Determinação da percentagem de amido nas raízes das cultivares Duke, Elizabeth, Legacy, Star e Paloma. Tratamentos: Entrada – frio natural + 0h de frio; Saída 1 (S1) - frio natural + 2904h de frio; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288h de frio	55

Lista de símbolos e abreviaturas

E1 – Tratamento de frio, com entrada na câmara a 13 dezembro e saída a 9 de janeiro (648 horas de frio artificial);

E2 – Tratamento de frio, com entrada na câmara a 10 janeiro e saída a 30 de janeiro (480 horas de frio artificial);

NHB – Northern Highbush Blueberry;

SHB – Southern Highbush Blueberry;

S1 – Tratamento de frio com data de saída 15 de maio de 2013 (2904 horas de frio artificial);

S2 – Tratamento de frio com data de saída 1 de junho de 2013 (3288 horas de frio artificial);

S3 – Tratamento de frio com data de saída 15 de junho de 2013 (3648 horas de frio artificial);

S4 – Tratamento de frio com data de saída 30 de junho de 2013 (4008 horas de frio artificial).

Tar-livre – Testemunha ao ar-livre;

Testufa – Testemunha em estufa;

1. Introdução

O mirtilo é um pequeno fruto que regista uma procura crescente, associada aos benefícios para a saúde que o seu consumo provoca e às qualidades organoléticas que possui.

Dada aquela procura, os preços oscilam em função da oferta e da procura existente no mercado, sendo que se regista uma significativa valorização no chamado período de *fora de época*. Segundo a CONSULAI (2014), os preços mais altos verificam-se na primavera e em setembro, conduzindo a que, numa perspetiva de otimização dos rendimentos, seja feita a manipulação do ciclo produtivo da planta. A propósito refira-se que, com recurso à utilização de estufas ou túneis, é possível produzir em intervalos de tempo específicos e com qualidade superior. Aliás, a manipulação do ciclo de produção já é feita com outros pequenos frutos, nomeadamente a amora e a framboesa

O mirtilo, dependendo do tipo que seja, Northern Highbush Blueberry (NHB) ou Southern Highbush Blueberry (SHB) necessita de mais ou menos horas de frio, facilmente completadas em câmara frigorífica. Com a colocação em estufas conseguiriam estar protegidos das condições adversas e seriam favorecidos por temperaturas mais amenas.

Na expectativa das melhorias produtivas referidas, surge a necessidade de ser ensaiada a resposta das plantas ao tratamento de frio e posterior colocação em estufa.

Com a capacidade de manipular o ciclo produtivo das plantas surgem dificuldades em determinar a quantidade de horas a que se devem expor as plantas sem provocar danos, em que época e quais as cultivares serão mais produtivas e se as reservas adquiridas aquando a entrada em dormência serão suficientes para suportar uma nova campanha.

Assim, para posterior avaliação da resposta das cultivares em estudo, em termos de aptidão para o condicionamento do ciclo produtivo, volume de produção e consumo de reservas (teor de amido) das raízes, foram feitos dois ensaios com cultivares NHB e SHB, na tentativa de antecipar a produção para a primavera e atrasar a mesma produção para o mês de setembro.

2. Revisão bibliográfica

2.1. Botânica

2.1.1. Género *Vaccinium*

O género *Vaccinium* é muito vasto, inclui entre 150 a 450 espécies, e pode ser encontrado em diferentes zonas do globo, tais como nos Himalaias, na Nova Guiné ou na zona dos Andes. Aliás, é na América do Sul que se julga ter sido a localização da origem deste género (Retamales e Hancock, 2012).

Embora não seja muito vulgar na Europa, em especial na Europa mediterrânica, este género pode ser encontrado em Portugal, designadamente o *V. myrtillus* e o *V. vitis-idae* em Portugal continental, e o *V. padifolium* e o *V. cylindraceum*, respetivamente, na Madeira e nos Açores (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007).

O género *Vaccinium* desagrega-se em dois subgéneros (*Oxyccocus* e *Vaccinium*) que, por sua vez, se desagregam em várias secções. Segundo Lopes-da-Fonseca e Oliveira (2007) esta separação não é consensual entre botânicos pois alguns consideram o subgénero *Oxyccocus*, onde se encontram integrados todos os arandos (cranberries), como um género distinto do *Vaccinium*. No subgénero *Vaccinium* encontra-se a secção *Cyanococcus*, que engloba os mirtilos cultivados, e nesta secção estão inseridas 15 espécies (Hancock *et al.*, 2008) das quais se destacam, por serem as mais produzidas, os *Vaccinium angustifolium* Ait. (lowbush), os *Vaccinium corymbosum* L. (highbush) e os *Vaccinium virgatum* Reade (rabbiteye).

Também a identificação das espécies na secção *Cyanococcus* não foi fácil devido à poliploidia existente, à morfologia sobreposta entre espécies, à hibridação extensiva e à falta generalizada de diferenciação cromossómica (Retamales e Hancock, 2012). Na primeira descrição taxonómica da secção foram identificadas nove espécies diploides, doze tetraploides e três hexaploides (Camp, 1945). Contudo, mais tarde esta descrição foi diminuída para seis espécies diploides, cinco tetraploides e uma hexaploide (Vander Kloet, 1980).

O mirtilo highbush *V. corymbosum* tetraploide, geneticamente, é um autopoliploide, com dois conjuntos de cromossomas semelhantes.

2.1.2. Tipos de mirtilo cultivados

Como foi referido o género *Vaccinium* é muito vasto sendo muitas as espécies cultivadas. As mais importantes e que são salientadas no presente trabalho, são a *Vaccinium corymbosum* conhecida por northern highbush blueberry (NHB), em português chamados mirtilos do norte, e híbridos do *Vaccinium corymbosum* designados Southern Highbush Blueberry (SHB), também conhecidos por mirtilos do sul.

Os NHB são originários do norte dos EUA, o que determina que as suas exigências de frio (temperaturas abaixo de 7 °C) sejam bastante baixas. Pela necessidade de frio que este tipo de mirtilo tem para florir e produzir, as explorações devem situar-se em zonas onde se consigam acumular entre 800 a 1000 horas de frio, ou então estas exigências deverão ser supridas artificialmente (câmaras de frio ou tratamentos químicos) (Krewer e NeSmith, 2006).

Para que se obtenham produções uniformes e consideráveis tem que ocorrer uma boa polinização nas flores das plantas de mirtilo. Os mirtilos do norte são capazes de produzir frutos por partenocarpia, todavia serão mirtilos pequenos, com amadurecimentos prolongados e podem até cair, não sendo comercializáveis. A polinização de muitas cultivares pode dar-se com pólen da mesma cultivar, no entanto noutras é necessária polinização cruzada com recurso a abelhas ou bombos (Isaacs e Gibbs, 2013).

Os SHB são fruto do cruzamento de cultivares NHB com cultivares originárias do sul, principalmente da espécie *V. darrowii*.

Ao contrário das cultivares NHB, têm pouca necessidade de frio (≤ 400 h), as cultivares SHB apresentam maior tolerância à seca e às altas temperaturas durante o verão, produzindo frutos com muita qualidade quando localizados nas latitudes mais baixas (Polomski e Reighard, 2013). Algumas cultivares são muito precoces, conseguindo atingir boas produções em janelas de oportunidade, como acontece em maio. No entanto, quando não é produzido em condições ideais, este tipo de mirtilo tem problemas de baixo vigor e apresenta grande taxa de mortalidade. Normalmente, os SHB são auto férteis mas são favorecidos com a ocorrência de polinização cruzada (Krewer e NeSmith, 2006).

2.1.3. Melhoramento dos mirtilos

Pela importância económica que o mirtilo tem nos EUA, foi neste país que teve início o seu melhoramento genético. O primeiro programa de melhoramento nos EUA teve início em

Nova Jersey, no ano de 1908 e sob iniciativa de Frederick Coville do USDA (United States Department of Agriculture), tendo sido lançadas as bases para o estudo de temas como a influência do pH do solo, a influência do frio e do fotoperíodo, técnicas de poda ou técnicas de propagação. Conjuntamente com Elizabeth White e outros investigadores, Frederick Coville fez a recolha de exemplares de *V. corymbosum* e *V. angustifolium* que mais tarde usou para o melhoramento. Cultivares como a Bluecrop, Bluejay ou Jersey são fruto do seu trabalho (Mainland, 2012).

Mais tarde, em 1937, George Darrow, em conjunto com o taxonomista W. H. Camp, teve um papel importante no estudo da filogenia e da problemática da infertilidade das espécies nativas (Hancock, 2006a). O trabalho de Darrow na incorporação de genes de *Vaccinium* selvagens no mapa genético das cultivares de mirtilos highbush é continuado por Arlen Draper (Draper, 1995; Hancock, 2006b). Com a ajuda de outros investigadores melhorou e lançou muitas variedades de SHB e NHB com melhoria na cor e firmeza do fruto, cicatrizes mais pequenas e maiores produtividades (Hancock e Galletta, 1995). A 'Duke' e a 'Elliot' são os seus maiores sucessos.

Ralph Sharp, em colaboração com Darrow, foi uma figura importante no desenvolvimento dos SHB (Sharp e Darrow, 1959; Lyrenne, 2008) pois foi o primeiro a recolher *V. darrowii* para o melhoramento. Até muito recentemente, genes de *Vaccinium* selvagens foram utilizados em cultivares do tipo Southern Highbush Blueberry. Um exemplo importante dessas cultivares é a 'Sharpblue'.

A cultivar 'Olympia', ainda hoje utilizada, é lançada por Joseph Eberhart, nos anos 30.

O melhoramento de cultivares de mirtilo não foi exclusivo dos americanos. Na Austrália, nos anos 60, foi desenvolvida a cultivar Brigitta Blue. Na HortResearch Inc., na Nova Zelândia, foram desenvolvidas as cultivares Nui, Reka e Puru, e na Alemanha, as cultivares Rekord, Ama ou Gretha, entre outras.

O melhoramento dos mirtilos "rabbiteye" começou em 1939 com George Darrow, tendo sido continuado por outros investigadores em zonas distintas dos EUA e da Nova Zelândia. A importância dos rabbiteye está na melhoria da cor, tamanho, textura e aparência dos mirtilos.

O cruzamento dos lowbush com *V. corymbosum* resultou nos mirtilos "half-high". Com frutos maiores e rendimentos superiores aos mirtilos lowbush, os mirtilos "half-high" têm também a vantagem de serem baixos o suficiente para serem cobertos com neve em zonas onde o inverno é muito severo.

Hoje em dia o esforço para o melhoramento do mirtilo continua, com objetivos muito abrangentes. A investigação sobre os NHB está focada em promover o sabor do mirtilo, aumentar o período de armazenamento, expandir o período de colheita, aumentar a resistência a pragas e doenças, aumentar a tolerância ao frio, potenciar a capacidade da colheita mecânica e determinar a genética das necessidades de frio. Para a prossecução dos objectivos pretendidos estão a ser feitos cruzamentos com *V. darrowii*, *V. angustifolium*, *V. constablaei* e outras espécies selvagens.

Os investigadores que estão a trabalhar no melhoramento deste tipo de mirtilo estão espalhados por todo o mundo, entre os quais se identificam Jim Hancock da Michigan State University; Mark Ehlenfeldt do USDA de Nova Jérсия; Nicholi Vorsa da Cranberry and Blueberry Research Station of Rutgers University; Chad Finn do USDA do Oregon; e Naranda Patel e Jessica Scalzo da Plant & Food Research na Nova Zelândia. Das cultivares recentemente desenvolvidas pelos investigadores mencionados podem-se destacar a 'Aurora', a 'Liberty', a 'Draper', a 'Chanticleer' e a 'Hanna's Choice'.

Os objetivos da investigação sobre os mirtilos do tipo Southern Highbush Blueberry consistem em obter produções precoces em plantas com muito vigor, aumentar a resistência a doenças, potenciar florações mais tardias, tal como nos NHB, bem como atingir maiores rendimentos, obter um melhor sabor, e potenciar as características da planta e do fruto para a mecanização. Também têm sido feitos cruzamentos de mirtilos "southern highbush" com "highbush" com poucas necessidades de horas de frio, oriundos da Georgia e Flórida (*V. ashei*, *V. ellioti* e *V. darrowii*) que, por essa característica e pela influência dos genes "evergreen" dos *V. darrowii*, possibilitam que se evite o processo de dormência em locais onde os invernos são amenos e, assim, aumentar o período de colheita durante o inverno até ao início da primavera (Darnell e Williamson, 1997; Lyrene, 2008). Paul Lyrene e Jim Olmstead da University of Florida, Jim Ballington da Carolina do Norte, Jim Moore e John Clark da University of Arkansas, Scott NeSmith da University of Florida, Steve Stringer, Arlen Draper e Jim Spiers do USDA-ARS no Mississippi, são alguns dos investigadores na primeira linha de desenvolvimento de cultivares SHB, simultaneamente à ocorrência de muitos programas privados de melhoramento.

Recentemente têm sido lançadas novas cultivares para o mercado como a 'Ozarkblue', 'Rebel', 'Camellia' e 'Biloxi' (Retamales e Hancock, 2012).

2.2. Morfologia

A morfologia da planta de mirtilo é muito e, naturalmente, influenciada pela sua espécie. A descrição apresentada foca-se nas espécies cultivadas para uso comercial: “highbush”, os “southern highbush” (*V. corymbosum* interspecific hybrid), os “lowbush”, e os “rabbiteye”.

Todas as espécies descritas são lenhosas e perenes. Os mirtilos highbush podem atingir os 4 m de altura, tal como os southern highbush. Os rabbiteye chegam a medir 6 m e no extremo oposto, os lowbush não atingem mais do que 20 cm (Darnell, 2006). O mirtilo é um arbusto composto por ramos que surgem de gomos recentemente formados ou gomos dormentes localizados na copa. Os novos ramos podem surgir da base, conhecidos por ramos do ano ou varas, e no segundo ano tornam-se lenhosos. Nos ramos do ano, normalmente, os gomos florais localizam-se na ponta, seguidos pelos gomos foliares (Retamales e Hancock, 2012). De acordo com Gough e Shutak (1978), os gomos florais são grandes e arredondados, enquanto os foliares são mais pequenos, estreitos e pontiagudos. Os gomos vegetativos dormentes têm cerca de 4 mm e um único vértice.

O mirtilo caracteriza-se por ter folhas simples, dispostas alternadamente no ramo, mas com características distintas. As folhas dos lowbush são estreitas e com um formato oval, as folhas dos highbush e dos southern highbush são ovais e as dos rabbiteye variam entre a forma espatulada e a lanceolada (Darnell, 2006). De notar que as variedades com menos exigências de frio muitas vezes não perdem as folhas no outono, permanecendo sempre com folhas desde que as temperaturas não atinjam o ponto de congelação. São as cultivares denominadas “evergreen” (Retamales e Hancock, 2012).

O sistema radicular dos mirtilos é muito superficial e compacto, com raízes finas de diâmetro <2 mm com função de absorção de água e nutrientes, e raízes de suporte e fixação ao solo com diâmetro entre 2 e 11 mm (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007). As raízes dos lowbush são adventícias, originárias de rizomas, enquanto as raízes dos mirtilos highbush e dos rabbiteye são muito finas e fibrosas, desprovidas de pelos radiculares (Darnell, 2006). O facto de os mirtilos não terem pelos radiculares conduz à necessidade de, segundo Lopes-da-Fonseca e Oliveira (2007), estes desenvolverem simbioses com vários fungos do solo, cujas hifas se expandem, em parte, nas primeiras camadas de células das raízes e o restante no solo que as rodeia. São as hifas, com 2 a 2,5 cm, que vão substituir os pelos radiculares e assegurar a absorção de água e nutrientes. De acordo com Retamales e Hancock (2012), 50% das raízes estão localizadas nos primeiros 30 cm de solo e 80-85% até 60 cm de profundidade.

A inflorescência do mirtilo é um cacho em que as corolas se distinguem conforme as espécies. Nos mirtilos highbush as corolas apresentam-se com forma de urna, tal como as dos rabbiteyes, embora nos últimos seja mais estreita. As corolas dos lowbush são tipicamente cilíndricas e mais pequenas do que as dos highbush e rabbiteye. A cor das corolas varia entre o branco sólido e o branco com raia de cor-de-rosa.

Conforme a espécie, o pistilo pode ser mais comprido ou mais curto do que a corola (Darnel, 2006). O ovário é inferior e tem quatro ou cinco lóculos, com vários óvulos em cada lóculo (Retamales e Hancock, 2012). Por flor encontram-se oito a dez estames. Cada estame é composto por uma antera, com duas aristas que têm poros na terminação e por onde o pólen sairá, e um filamento. O pólen é um tétrade, embora raramente produza vários tubos polínicos (Brewer e Dobson, 1969; Darnell, 2006).

O mirtilo é considerado uma verdadeira baga. Uma baga consiste num ovário com 100 ou mais óvulos, óvulos esses que serão sementes depois da polinização e fertilização. Quando maduros, os frutos são pretos-azulados ou roxo escuro com a superfície coberta por pruína.

2.3. A importância dos mirtilos em Portugal e no Mundo

A cultura do mirtilo tem vindo a apresentar um interesse crescente por parte de consumidores e produtores. As suas qualidades organolépticas e os benefícios que o seu consumo traz para a saúde têm provocado uma procura crescente pelos pequenos frutos, em fresco, e em especial pelo mirtilo.

Os benefícios do consumo do mirtilo para a saúde humana têm vindo a receber cada vez mais atenção, (Mainland e Tucker, 2002). A cor característica dos mirtilos é derivada das antocianinas presentes no fruto e são estas que contribuem para o seu poder antioxidante (Beccaro *et al.*, 2006; Moyer *et al.* 2002).

A evolução da procura tem encontrado resposta na oferta já que se assistiu (e se assiste) a um continuado aumento da produção destes frutos a nível nacional e a nível global.

Em Portugal, no ano de 2012 e relativamente ao ano anterior, verificou-se um aumento significativo da produção, com o aumento de 105% da produção e 64% da superfície (Estatísticas Agrícolas, 2013). Em 2012, o mirtilo representava somente 4% da produção mundial de pequenos frutos (FAO Stat, 2014), todavia, de acordo com CONSULAI, este pequeno fruto é o que apresenta maior margem de progressão tanto ao nível da tendência de consumo como ao nível de tendência de importação, influenciada principalmente pelos consumidores dos EUA.

Segundo a FAO Stat (2014), a área mundial dedicada à produção de mirtilo tem vindo a registar uma subida, ainda que ligeira, desde o ano de 2005 e foi registado o mesmo comportamento relativamente à quantidade mirtilo produzido.

Entre 2005 e 2012, a produtividade média anual rondou os 4396 kg/ha. Depois do morango, o mirtilo apresenta a segunda maior produtividade na europa, que rondará os 8494 kg/ha.

Quando produzido fora de época, a cultura do mirtilo é particularmente valorizada e, consequentemente, geradora de maior valor acrescentado.

Pelas características fortemente sazonais da produção na Europa, surge em Portugal, em especial no sudoeste alentejano e Algarve, a oportunidade de reduzir o período não-produtivo produzindo-se mirtilo durante a Primavera e, também, em setembro, possibilitando o aproveitamento de uma janela de oportunidade correspondente à prática de preços elevados na Europa naqueles períodos.

Por outro lado sabe-se que o preço do mirtilo, em fresco, começa a decrescer em julho com a entrada no mercado de fruta proveniente do mercado Francês, Polaco (Pliszka, 1997) e Alemão (Ciordia *et al.*, 2002). O valor do mirtilo (em euros) registou uma descida constante ao longo dos anos, tendência que foi invertida ao longo do ano de 2012. O mesmo aconteceu com a quantidade produzida (EURO Stat, 2012). Portugal exporta 68% da sua produção para França, no entanto, segundo o EURO Stat (2014), o GPP (2014) e o INE (2013), as exportações representam apenas 15% da produção, contrariando as expectativas dos produtores em exportarem a sua fruta com um valor mais alto. Nos anos de 2012 e 2013 as exportações portuguesas de mirtilo diminuíram 13% em quantidade e 30% em valor, o que reforça o facto da balança comercial ser claramente negativa. O preço médio de venda do mirtilo desde o ano de 2004 até ao ano 2013 foi 6,37 €/kg.

Este facto reforça a ideia de que, antecipar e atrasar a colheita é fundamental para maximizar o resultado económico das explorações (Baptista *et al.* 2006), tirando partido das boas condições climáticas do Sul da Europa para a produção ao ar livre e cultura protegida de “Southern Highbush Blueberry” (Barrau *et al.*, 2003; Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2001).

2.4. Biologia das plantas

2.4.1. Ciclo biológico

De acordo com Gough *et al.* (1978), a diferenciação floral começa entre os meados do verão e o seu término, com a cessação do crescimento dos ramos, em gomos localizados na

lenha com um ano. A iniciação floral nos NHB começa e termina antes dos SHB, pois ao contrário dos NHB, os SHB prolongam a diferenciação floral ao longo do inverno.

No início do outono as temperaturas a descer, entrando gradualmente no período de dormência (MSU extention, http://blueberries.msu.edu/uploads/files/Blueerry_CycleOfGrowth_Mark.pdf - 2013). Ao longo deste período, que se prolonga pelo inverno, vão ser acumuladas horas de frio que vão suprir as necessidades da planta, entendendo-se por horas de frio a acumulação de horas com temperaturas ≤ 7 °C. Enquanto os NHB necessitam de 800 a 1200 h (Eck, 1988; Galletta, 1975), os SHB necessitam de um valor inferior a 400 h (Sharp e Darrow, 1959).

A quebra da dormência dá-se na primavera quando as temperaturas começam a aumentar e as horas de frio estão satisfeitas. Na primavera começa o crescimento floral com o abrolhamento e desenvolvimento dos gomos florais, durante 3 a 4 semanas (Retamales e Hancock, 2012) dependendo da cultivar e da temperatura. Mais tarde os gomos vegetativos começam a abrir, e a velocidade a que esse processo se desenvolve, depende da cultivar, duração do período de dormência e temperatura na primavera (Gough e Shutak, 1978). O crescimento dos lançamentos é episódico e simpodial, isto é, não é um crescimento contínuo e ocorre a partir da base, com um desenvolvimento rápido até que o gomo terminal morra, e se desenvolvam os dois ou três gomos abaixo deste. A este processo dá-se o nome de ponta negra e é característica dos mirtilos. Podem ocorrer dois, três ou mais fluxos de crescimento por ano, variando com a cultivar e as condições ambientais (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007; Gough, 1991). Tendencialmente, são as cultivares mais precoces que têm mais fluxos de crescimento, contudo nem sempre é assim pois a cultivar Lateblue, apesar de ser tardia, comporta-se como uma cultivar de meia estação (Gough, 1978, 1994). Pode acontecer que gomos que permaneceriam dormentes abrolhem no fim do verão ou princípio do outono, num acontecimento que se designa *prolepsis* (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007). Tal pode dever-se a regas tardias abundantes, chuvas outonais ou fertilizações tardias com azoto e geralmente são queimados pelo frio no inverno.

O crescimento das raízes dá-se em dois picos durante o ciclo anual. O primeiro pico, mais fraco, ocorre na primavera, iniciando-se na frutificação e prolongando-se até ao estado imaturo do fruto. O segundo pico tem início depois de a colheita começar e acaba antes da entrada em dormência da planta (Abbott e Gough, 1987).

A floração nos mirtilos é relativamente longa, variando 7 a 14 dias. O período de floração depende da base genética, das temperaturas e da posição do gomo no ramo. As cultivares precoces tendem a ter períodos de floração mais longos do que as cultivares tardias, o que se deve ao facto da floração ocorrer quando as temperaturas são baixas prolongando este

estado (Eck, 1988; Gough, 1991), e os gomos localizados na extremidade do ramo, bem como aqueles que estiverem dispostos em ramos mais finos, irão florir primeiro (Gough *et al.*, 1978).

A flor do mirtilo é composta por dezenas de óvulos, que depois de fecundados, irão dar origem a sementes. Cada grão de pólen é constituído por tétradas, as quais irão originar um ou mais tubos polínicos (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007) e o seu crescimento é favorecido pelas temperaturas amenas (Knight e Scott, 1964). Desta maneira serão então necessários tantos grãos de pólen quantos óvulos para uma correta fertilização (Gough *et al.*, 1978). Apenas uma fração dos óvulos dará origem a sementes e os mirtilos do tipo highbush e rabbiteye, apesar de excederem os 110 óvulos por fruto (Darrow, 1941; Parrie 1990), grande parte não se desenvolve ficando os frutos dos mirtilos highbush com 16 a 74 sementes por fruto, e os mirtilos rabbiteye 38 a 82 (Darrow, 1958). O aborto das sementes vai depender do nível de autopolinização (Retamales e Hancock, 2012) e o número das sobreviventes vai ser determinante para o tamanho do fruto nos NHB (White e Clark, 1939; Darrow 1958; Moore *et al.*, 1972; Krebs e Hancock, 1988) e nos SHB (Lang e Danka, 1991). As sementes durante o seu crescimento produzem ácido giberélico que afeta o número de células, o seu crescimento e consequentemente o crescimento do fruto (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007).

O crescimento do fruto é representado por uma curva sigmoide e dividido em três fases de crescimento (Retamales e Hancock, 2012). A primeira fase que se estende por cerca de um mês, dependendo da cultivar e das condições ambientais, consiste na divisão e aumento do tamanho celular e ganho em matéria seca (Birkhold *et al.*, 1992; Cano-Medrano e Darnell, 1997; Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007). A segunda fase, desenvolvimento das sementes (Edward *et al.*, 1972), depende mais uma vez da cultivar e das condições ambientais, assim como do número de sementes viáveis, prolongando-se por 30 a 40 dias (Darnell, 2006). A terceira e última fase corresponde ao amadurecimento das bagas com o aumento do seu tamanho, resultante do aumento do volume das células (Galletta, 1975), dura 30 a 60 dias e, naturalmente, depende da cultivar e das condições ambientais. Nesta fase o teor de clorofila nos frutos diminui e o conteúdo em antocianinas aumenta, adquirindo a cor azul característica do mirtilo, e o teor de açúcares aumenta com diminuição da acidez (Lopes-da-Fonseca e Oliveira, 2007; Retamales e Hancock, 2012). Nos NHB, o período de desenvolvimento do fruto dura 42 a 90 dias e os frutos SHB, 55 a 60 dias (Oliveira, Baptista e Lopes-da-Fonseca, 2005).

2.4.2. Indução, diferenciação floral e floração

O fotoperíodo pode definir-se como “um fator ambiental que muda de forma previsível todos os anos para uma latitude e um dia em particular”. Este fator é de grande importância para as plantas pois permite que estas adaptem a sua fisiologia e metabolismo conforme a estação do ano que se aproxima. Para plantas como o mirtilo, plantas perenes, lenhosas e nativas de latitudes altas, o fotoperíodo é essencial para que sincronizem o período de crescimento vegetativo, durante a primavera e verão, e a entrada em dormência no outono e inverno. Os mirtilos highbush (*Vaccinium corymbosum* L.) são originários de zonas onde o fotoperíodo oscila entre as 16-18 h (Bañados e Strik, 2006).

Nos *Vaccinium* o fotoperíodo tem grande influência na diferenciação e no posterior desenvolvimento dos gomos florais. Enquanto os dias-curtos favorecem a diferenciação floral, são os dias longos que potenciam a taxa de desenvolvimento desses mesmos gomos. De acordo com Spann *et al.* (2003), o fotoperíodo influencia o desenvolvimento vegetativo e reprodutivo, tanto nos híbridos de *Vaccinium darrowi* como nos de *Vaccinium corymbosum*. Nos mirtilos highbush e nos lowbush o início da diferenciação e floração é promovido por dias curtos. Nos mirtilos highbush o início da diferenciação floral começa com 8, 10 ou 12 h de fotoperíodo durante 5-6 semanas, embora, também segundo Hall *et al.* (1963), se formem alguns gomos florais sob 14 e 16 h de fotoperíodo, todavia em menor quantidade. Para o máximo crescimento vegetativo são necessárias 16 h de fotoperíodo, sendo que o mínimo crescimento vegetativo é registado com 8 h. Como referido por Darnell (1991), o equilíbrio é encontrado às 10 h de fotoperíodo pois é quando ocorre o máximo de diferenciação floral e tal é atribuído também ao crescimento mais extensivo dos lançamentos vegetativos, fornecendo deste modo mais lançamentos onde desenvolver gomos florais.

Não se pode excluir o fator temperatura no estudo do fotoperíodo. Na Austrália a diferenciação floral dos southern highbush ocorre durante todo o ano (Wright, 1993). No entanto, à mesma latitude e com fotoperíodos semelhantes, o mesmo não acontece na Flórida (Spann *et al.*, 2003). Esta diferença sugere que pode ser a temperatura que vai ter um papel importante na diferenciação floral, como acontece noutras plantas sensíveis ao fotoperíodo (Bernier *et al.* 1981, Pettersen, 1972; Sonsteby, 1997), visto que as zonas de cultivo de mirtilos na Austrália, em média, são 4 °C mais frias do que na Flórida (Spann *et al.*, 2003). O morangueiro é um exemplo da sensibilidade do fotoperíodo à temperatura para a diferenciação floral. A exigência de dias-curtos pode ser substituída por temperaturas baixas ou dar-se com fotoperíodos de 16 a 24 h, a temperaturas inferiores a 15 °C (Heide, 1977), mas ser inibida com temperaturas acima de 25 °C, mesmo em dias-curtos (Durner *et*

al., 1984). Segundo Spann (2001) o mesmo pode acontecer nos southern highbush pela inibição na diferenciação floral que ocorre a 28 °C quando comparada com 21 °C sob dias-curtos.

Como acima foi referido, para plantas lenhosas e perenes como os mirtilos, os dias cada vez mais curtos de fotoperíodo precedem o início do período de dormência. Neste período as reservas de hidratos de carbono, para o período de dormência e o abrolhamento, começam a aumentar (Hansen e Grauslund, 1973; Tromp, 1983; Worley, 1979), o que pode dever-se ao aumento da assimilação de CO₂ por parte dos mirtilos sob dias curtos (Darnell, 1991). O crescimento vegetativo nos *Vaccinium* não é controlado por fitocromos, como concluiu Spann *et al.* (2003) no seu trabalho. Se tal acontecesse seria de esperar que o efeito interruptivo do tratamento “noite” tivesse um efeito similar ao do tratamento “dias-longos”. O aumento do crescimento vegetativo será provavelmente resultado do consumo de hidratos de carbono e não do fotoperíodo. Por outro lado, se inicialmente se julgava que a diferenciação floral era mediada por fitocromos, Darnell (1991) constatou que a quantidade de hidratos de carbono também é importante neste caso. Nos mirtilos rabbiteye, a partição dos assimilados translocados nos tecidos dos nós tem um aumento superior nos dias-curtos do que nos dias longos. Este aumento ocorre sensivelmente à segunda semana, das 5-6 necessárias do ciclo indutivo para o início da diferenciação. O aumento de hidratos de carbonos nos nós foi sugerido por Bernier *et al.* (1993) e Bodson (1977) como um pré-requisito para o começo da diferenciação floral noutras plantas sensíveis ao fotoperíodo.

2.4.3. Exigência climáticas

Como se sabe, as plantas perenes lenhosas têm a capacidade de entrar num estado de dormência e desenvolver uma resistência ao frio (Powell, 1987). A resistência/aclimatização ao frio consiste numa resistência crescente a baixas temperaturas e à dessecação celular das plantas quando expostas a fotoperíodos curtos, baixas temperaturas, secas suaves, entre outros fatores, que vão resultar na alteração da expressão celular e fisiologia das plantas (Levitt, 1980; Xin e Browse, 2000; Wisniewski *et al.*, 2003).

Como Lang *et al.* (1987) definiu, dormência é a “suspensão temporária de crescimento visível de qualquer estrutura da planta com meristema”. A dormência pode ser considerada endodormência, paradormência ou ecodormência. Endodormência é a dormência alcançada quando os sinais endógenos ou ambientais como temperatura baixa, fotoperíodos curtos, hormonas ou outros influenciam especificamente o meristema afetado e é regulada por fatores fisiológicos que têm origem nas zonas afetadas. Já a paradormência ocorre quando

os sinais indutores de dormência são originários numa estrutura que não a estrutura afetada pela endodormência. Por fim, a ecodormência inclui os casos em que a suspensão do crescimento resulta de fatores ambientais que não são habituais ou esperados como são, por exemplo, temperaturas altas ou baixas demais, desidratação ou deficiências nutricionais. Este último tipo de dormência tem efeitos não direcionados em todos os aspectos do desenvolvimento e da fisiologia, mesmo no caso de órgãos dormentes.

Assim que as plantas entram no estágio de endodormência (Lang *et al.*, 1987), é necessário um período de frio, que é variável entre cultivares, para o abrolhamento vegetativo e floral na primavera seguinte. Os requisitos de horas de frio previnem assim que ocorram crescimentos durante período de temperaturas amenas durante o inverno e ajuda a sincronização entre o crescimento das plantas e as condições ambientais favoráveis para que tal aconteça (Rowland *et al.* 1999). É a junção dos fatores necessidade e resistência ao frio que vai determinar qual é a zona (temperate-zone fruit crops) a que a planta vai sobreviver no inverno e início da primavera, sem que ocorram danos nas flores ou rebentos vegetativos (Rowland *et al.* 1999). Existe também uma correlação positiva entre a quantidade de frio recebido e o rendimento de certas cultivares, o que conduz à ideia de que plantas com frio insuficiente produzem flores com menos capacidade de frutificar. Mirtilos e outras plantas de folha caduca sem as suas exigências de frio satisfeitas terão um abrolhamento tardio e irregular, e o desenvolvimento do fruto será igualmente tardio (Darnell e Davies, 1990)

Completas as horas de frio necessário, que variam entre as 150 – 1000 h, começa o processo de de-aclimatização, isto é, os níveis de resistência ao frio atingido começam a diminuir, assim como os mecanismos que possibilitam essa redução. O processo de de-aclimatização pode ser ativo ou passivo. O processo de de-aclimatização ativo geralmente ocorre durante a primavera mas pode ocorrer igualmente em períodos de temperaturas amenas durante o inverno. A planta responde assim a aumentos da temperatura repentinos e está associado a um vasto leque de mudanças estruturais e funcionais associadas ao recomeço do crescimento. Por outro lado, o processo de de-aclimatização passivo ocorre quando plantas perfeitamente aclimatizadas são expostas, em pleno inverno e durante um longo período de tempo, ao aumento pequeno a moderado das temperaturas (~5 °C ou menos) (Kalberer *et al.*, 2006).

Taulavuori *et al.* (1997) constatou que com o aumento artificial de 2 – 3 °C ocorreu de-aclimatização e abrolhamento prematuro em mirtilos. Esta fase está associada ao consumo de reservas de hidratos de carbono, devido ao aumento do metabolismo das plantas. Ögren (1996) observou que em mirtilos ao ar-livre, o aumento de 5 °C provocou de-

aclimatização passiva, acrescentando que esta possivelmente se deveu ao consumo de açúcares solúveis de reserva para suportar os grandes ratios de respiração que não eram compensados com a fixação de CO₂. O consumo de açúcares ocorre porque para as baixas temperaturas registadas durante a dormência a respiração mitocondrial é superior à fotossíntese realizada (Ögren, 1996;1997).

A resistência à de-aclimatização não está totalmente esclarecida. Segundo Arora *et al.* (2004), apesar de nas cultivares Tifblue e Bluecrop a resistência ao frio estar relacionada com a resistência à de-aclimatização, esta teoria não se pode estender às restantes cultivares. Uma possível explicação apresentada por Kalberer *et al.* (2006) para esta resistência poderá estar na função do grau de flutuações de temperaturas (frequência e magnitude) às quais as plantas estão expostas na sua localização de origem, em vez das baixas temperaturas por si só, isto é, plantas que cresceram sob condições relativamente estáveis não serão tão suscetíveis ao desenvolvimento de resistência à de-aclimatização aquando uma subida de temperaturas temporária.

2.5. Hidratos de Carbono

Tal como os mirtilos SHB, os rabbiteyes têm o seu abrolhamento floral antes ou durante o abrolhamento vegetativo, dependendo da cultivar e/ou da dormência (Darnell e Davis, 1990). Consequentemente existem cultivares que não têm folhas a fotossintetizar de forma a suportar o desenvolvimento dos frutos. Neste caso, vai ser a fotossíntese realizada pelas flores e pelos frutos, que se estão a desenvolver, e/ou a remobilização e importação de hidratos de carbono, armazenados no ciclo anterior, que vão fornecer o carbono (C) necessário para o estado reprodutivo inicial das plantas (Birkhold, *et al.*, 1992)

É a remobilização dos hidratos de carbono armazenados que vai satisfazer as necessidades de C para o desenvolvimento dos frutos, quando a fotossíntese dos mesmos não é suficiente, antes do abrolhamento dos gomos vegetativos. A quantidade de reservas utilizadas vai depender da carga da planta, da taxa de crescimento dos frutos e da iniciação de exportação dos hidratos de carbonos provenientes da fotossíntese das folhas novas.

Nos rebentos e nas raízes de macieira [*Malus domestica* (Borkh.)] e de pessegueiro [*Prunus persica* (L.)], os hidratos de carbono diminuem até às 8 semanas depois do abrolhamento, com o restabelecimento das reservas, no pessegueiro, 9 semanas depois do abrolhamento (Oliveira e Priestley, 1988; Stassen *et al.*, 1981). Já na cerejeira [*Prunus avium* (L.)] os níveis de hidratos de carbono diminuem rapidamente durante a floração e não aumentam significativamente até depois da colheita (Keller e Loescher, 1989). As reservas de hidratos

de carbono mobilizadas podem ser importantes para o fornecimento de C durante a primeira fase de crescimento das cerejas, sugeriu Kappes (1985). De facto, Quilan e Preston (1968) demonstraram que a floração e o desenvolvimento precoce de maçãs depende parcialmente das reservas de hidratos de carbono, mesmo que parte das necessidades de C seja suprida pela fotossíntese feita pelos esporões das folhas.

Os novos rebentos vegetativos vão competir com os frutos em hidratos de carbono mobilizados, visto que também consomem C. O ganho em matéria seca das primeiras 5 a 6 folhas nas macieiras depende das reservas existentes (Hansen, 1973), assim como Hansen e Grauslund (1973) estimaram que 75% das reservas de hidratos de carbono presentes em macieiras aquando o abrolhamento foram consumidas na respiração no desenvolvimento de novas folhas, rebentos, e frutos no início da primavera.

Como foi acima referido, nos rabbiteyes e nos SHB, o crescimento vegetativo ocorre depois ou durante o período reprodutivo o que conduz à competição entre as sinks vegetativas e reprodutivas por hidratos de carbono. O mesmo já não acontece com os NHB porque o crescimento vegetativo ocorre antes do período reprodutivo.

2.6. Tecnologias de produção

2.6.1. Cultura protegida

A produção cultura protegida de pequenos frutos pode ser feita em estufas, túneis ou com redes de proteção.

Em países com temperaturas baixas as estufas poderão ser aquecidas durante o inverno, até aos 12 – 14 °C, durante o dia, e até aos 8 – 10 °C, durante a noite e assim é possível antecipar a produção até 2 meses (Bal, 1997). As temperaturas atingidas dentro da estufa podem ser vantajosas para promover o crescimento dos arbustos, antes da floração. Todavia, depois de esta ocorrer, a manutenção das altas temperaturas pode afetar o crescimento dos mesmos, bem como o amadurecimento dos frutos, dando lugar a colheitas no mesmo período de tempo em que os arbustos ao ar-livre estão a produzir. Para contrariar estes acontecimentos, a ventilação adequada das estufas e dos túneis é essencial (Bal, 1997).

Na antecipação da produção, a floração precoce pode ser também um problema para uma boa polinização, já que as abelhas só voam acima dos 9 °C no exterior, e no interior das estufas, só voam acima dos 14 °C. Os bombos já voam quando estão 6 °C (Bal, 1997), no

entanto as temperaturas elevadas que se verificam dentro das estufas pode também ser problemático para estes e para as abelhas.

Pode também ser colocado plástico sob a cultura para que a produção seja atrasada. Exatamente antes dos mirtilos iniciarem a coloração, o plástico é estendido por cima dos arbustos, protegendo os frutos da chuva e abrandando a maturação. Se este processo for feito antes, em vez de atrasar a colheita, antecipa-a. Uma cultivar indicada será a ‘Elizabeth’ (Bal, 1997).

No final, há que ter em conta que o comportamento dos frutos e o seu desenvolvimento é específico das cultivares (Baptista *et al.*, 2006; Renquist, 2005), assim como os arbustos de mirtilo utilizados em produção protegida deverão ter 4 a 5 anos, em plena produção, para que sejam reduzidos os custos iniciais (Bal, 1997)

2.6.2. Produção em túnel

A produção pode também ser efetuada em túneis elevados que consistem numa estrutura coberta com plástico de polietileno, ventilada naturalmente (Lamont, 2009; Waterer, 2003) em que o aquecimento provem da luz solar durante o dia. São utilizados para alteração do microclima da cultura, proteção de condições ambientais adversas ao crescimento ou extensão da época produtiva (Lamont, 2005; Wells e Loy, 1993). As técnicas de produção em túnel são muito semelhantes às recomendadas para o ar livre. Sofrem pequenas alterações a duração, quantidade e tipo de rega, métodos de fertilização e técnicas de poda (Heidenreich *et al.*, 2007; Jett, 2007; Lamont *et al.* 2006).

Vários estudos revelaram resultados positivos com o uso de túneis para o cultivo de pequenos frutos, como morangos, framboesas, amoras e cerejas, essencialmente por proteção contra a chuva e o vento. (Demchak, 2009; Gaskell, 2004, Kadir *et al.*, 2006; Kempler, 2002; Xiao *et al.* 2001). Na cultura do morango, verificaram-se rendimentos superiores nos túneis do que ao ar-livre (Kadir *et al.*, 2006). Enquanto nas cerejas, verificou-se que a cobertura com plástico durante algumas semanas na frutificação e colheita resultou no aumento de calibre dos frutos e do grau brix, quando comparados com frutos colhidos em árvores ao ar-livre (Lang, 2009).

Este tipo de estrutura tem resultado em vantagens notórias: colheitas antecipadas, produções mais altas e mais higienizadas, e produtos de maior qualidade. O uso mais eficiente de água e fertilizantes, a redução da erosão do solo, bem como a diminuição da presença de infestantes e redução de pragas são algumas das vantagens evidenciadas por

Lamont (2005). Mas não só. Também evidencia ser uma alternativa para a proteção contra as geadas (Lamont *et al.*, 2002).

A procura crescente por framboesas fora de época, na Califórnia, fez aumentar muito a área de produção em túneis, assim como na Europa para que as produções tivessem a qualidade exigida para o mercado em fresco (Gaskell, 2004). São as temperaturas amenas dentro dos túneis que permitem a produção fora de época. A temperatura do ar pode ser superior em 10-20 °C (Kadir *et al.*, 2006), e a temperatura do solo 4-8 °C (Reiss *et al.*, 2004) em relação à temperatura exterior. Em caso de uso de túneis, a produção de mirtilo, num ano normal a tardio, poderá ser antecipada 5 a 6 semanas, e num ano precoce, 2 a 4 semanas (Bal, 1997). A antecipação da produção de mirtilo, sob cultura protegida, foi também relatada por Ciordia *et al.* (2002), Hicklenton *et al.* (2004), Oliveira *et al.*, (2005), Baptista *et al.* (2006) e Ozeki e Tamada (2006). A 'cultivar Duke' é considerada adequada para antecipar a produção, de acordo com Bal (1997).

2.6.3. Produção em substrato

Os mirtilos são plantas com um sistema radicular fino, fibroso, superficial e fasciculado (Eck, 1988). Os highbush, em particular, necessitam de solos com características que estão cada vez menos disponíveis, isto é, o solo ideal seria um solo com muita matéria orgânica, bem drenado, com pH baixo, com níveis de humidade adequados e água disponível (Kozinski, 2006). Assim, torna-se indispensável a adoção da utilização de substratos por forma a contornar estas limitações.

Os materiais que podem ser usados na formulação do substrato são variados e devem viáveis do ponto de vista prático e económico. Muitas vezes é feito uma mistura de materiais orgânicos como turfa com pH baixo, serradura ou aparas de coníferas (Ochmian, *et al.*, 2010), subprodutos do algodão, cascas de noqueiras pecã (Krewer *et al.*, 2002), composto à base de folhas, turfa à base de cinzas de carvão (Black *et al.*, 2002) e agulhas de coníferas.

Têm sido feitos vários estudos sobre quais os produtos mais favoráveis para a composição do substrato. Ochmian *et al.* (2010) referiu que, num estudo que realizou para comparar os resultados da cultivar Patriot em três substratos (casca de cacau, serradura e turfa), enquanto as plantas tiveram um crescimento vegetativo maior em turfa, o rendimento foi superior em serradura, produzindo mirtilos mais ricos em N, P, K, Zn, açúcares totais e açúcares sólidos solúveis, embora tenha sido observada a perda de calibre mais acentuada ao longo da colheita, e menores concentrações de antocianinas e fenóis totais, quando comparados com mirtilos produzidos em casca de cacau e turfa.

O tema sobre a produção de mirtilos em substrato é um tema ainda pouco explorado e a informação é escassa, sendo necessário mais estudo e aprofundamento do conhecimento.

Quando se pretende a manipulação do ciclo produtivo das plantas, quer para a antecipação ou atraso na produção, torna-se necessário recorrer à cultura em substrato pois facilita as operações culturais e permite a colocação das plantas em câmara frigorífica para manipulação do ciclo produtivo.

3. Material e métodos

3.1. Localização dos ensaios

Os dois ensaios realizaram-se na Herdade Experimental da Fataca (HEF), concelho de Odemira, à latitude e longitude, respetivamente 37°30'N e 8°45'O. A HEF encontra-se no perímetro regado do Mira inserida no Parque Natural do Sudoeste Alentejano e Costa Vicentina, distando 4 km do oceano e a 106 m de altitude.

Os trabalhos laboratoriais e de apoio à realização do estudo experimental foram feitos na Unidade Estratégica de Investigação e Serviços em Sistemas Agrários Florestais e Sanidade Vegetal do Instituto Nacional de Investigação Agrária e Veterinária, localizado na Quinta do Marquês, em Oeiras.

3.2. Material vegetal

Nos dois ensaios foram utilizadas plantas de mirtilo de seis cultivares, três cultivares do tipo “Southern Highbush Blueberry” (SHB) - Star, Paloma, O’Neal, e três cultivares do tipo Northern Highbush” (NHB) - Legacy, Duke e Elisabeth. As plantas com dois anos de idade, provenientes da empresa Multibaies, com sede em Cheffes, França, foram recebidas envasadas, em vasos de 4 litros, na Herdade em novembro de 2011.

As cultivares apresentam as seguintes características gerais:

‘Paloma’ – Esta cultivar é designada por ‘Haven’ na Europa. Porte moderadamente ereto, tornando-se retumbante quando está em plena produção. O amadurecimento dos frutos ocorre aproximadamente 40 dias depois da floração. São necessárias entre 100 – 600 horas, no máximo, de frio para esta cultivar. É uma seleção proveniente de um cruzamento natural de Avon Blue (comunicação pessoal, Hartmann’s Plant Co.).

‘Star’ – São plantas com porte moderadamente ereto. O amadurecimento dos frutos é precoce e concentrado, e em três semanas, os frutos maduros variam de 10% para 80%. Necessita de 400h de frio e resulta do cruzamento ‘O’Neal’ x Fla. 80-31 (Lyrene, P., 2000).

‘O’Neal’ – São plantas vigorosas, com porte semi-ereto chegando a atingir 1,4 m. O amadurecimento dos frutos da ‘O’Neal’ é muito precoce (Ballington, J.R. *et al.*, 1990), sendo que a colheita ocorre, sensivelmente, 48 dias após a floração (Baptista *et al.*, 2006). A cultivar O’Neal tem necessidades em frio de ≈ 400 h e resulta do cruzamento ‘Wolcott’ \times Fla. 64-15 (Ballington, J.R. *et al.*, 1990).

‘Legacy’ – São plantas vigorosas mas com porte arbustivo. O amadurecimento dos frutos é tardio e a colheita ocorre sensivelmente 60 dias após a floração (comunicação pessoal, Hartmann’s Plant Co.). A cultivar Legacy necessita de aproximadamente 700 h de frio e resulta do cruzamento Elizabeth \times US75 (<http://ncblueberryjournal.blogspot.pt/2011/08/blueberry-cultivar-legacy.html> - 23-Out-13).

‘Duke’ – São plantas vigorosas e com porte ereto. O amadurecimento dos frutos é precoce. A cultivar Duke necessita de 900 h de frio e resulta do cruzamento G-100 (Ivanhoe \times Earliblue) \times 192-8 [(Berkeley \times Earliblue) \times (Coville \times Atlantic)].

‘Elizabeth’ – As plantas desta cultivar têm porte arbustivo. É medianamente tardio o amadurecimento dos frutos.

3.3. Substrato

Todas as plantas em ensaio foram reenvasadas em março de 2012, em vasos de 12 l, tendo sido utilizado substrato Siro® Ácido, especial para plantas acidófilas, composto à base de Húmus - Siro®Agro 1, turfas loiras selecionadas e casca de pinho, e fertilização de libertação controlada de 3 a 6 meses.

O substrato Siro® Ácido tem as seguintes características físico-químicas:

pH em CaCl_2	4,0 – 4,5
Humidade	50 – 60%
Condutividade	0,6 – 1,0 CE
M.O.	>70%
Azoto (N)	100 – 200 mg/l
Fósforo (P_2O_5)	100 – 200 mg/l
Potássio (K_2O)	200 – 400 mg/l

3.4. Estufa e câmara de frio

A estufa onde decorreu o ensaio é não aquecida, com 3,5 m de pé direito, 13,0 m de largura e 30,0 m de comprimento, com aberturas de ventilação lateral e nas cumeeiras. Todas as aberturas foram cobertas com rede anti pássaro. A câmara de frio onde foram realizados os tratamentos de frio corresponde ao modelo Techno Block VTK-400 e encontrava-se entre os 0 e os 2 °C

3.5. Poda

A poda foi feita a todas as plantas do ensaio, salvo quando não foi necessário (figura 1). Apesar de serem plantas jovens foi feita a poda, privilegiando ramos em boas condições e bem localizados. Foram removidos os ramos no centro da planta e os ramos inferiores. Os ramos do primeiro ano foram cortados, assim como os ramos que se encontrassem prostrados e perto do chão pois dificulta a colheita e é prejudicial em termos de sanidade. Foram também cortados os ramos finos que, para além de não frutificarem, limitavam o arejamento da planta e a penetração da luz.

Nos dois ensaios, a poda foi feita antes da entrada das plantas na câmara de frio para que fosse promovido um critério homogéneo. No final dos dois ensaios, quando atingiram o final da produção, as plantas foram igualmente podadas.

3.6. Rega e Fertilização

Foi utilizado um sistema de rega gota a gota com dois gotejadores de 3 l/h por vaso. A rega do ensaio foi diária. Durante os meses de janeiro a junho a rega era feita duas vezes ao dia durante 15 minutos. Foram feitas quatro regas diárias de 15 minutos e a partir do mês de julho a duração das regas aumentou para 20 minutos cada.

A adubação foi feita através da água de rega (fertirrega). O sistema era composto por três tanques tendo sido programado em todos o mesmo volume de injeção. Cada tanque tem a capacidade para 1000 l e tinha a seguinte quantidade de adubos e a respetiva composição:

Tanque A	50 kg de sulfato de potássio (52% K ₂ O e 45% SO ₃) 25 kg de fosfato monopotássico (52% P ₂ O ₅ e 34% K ₂ O);
Tanque B	50 kg de sulfato de amónio (21% N e 60% SO ₃) 25 kg de sulfato de magnésio (16% MgO e 32% SO ₃);
Tanque C	3,0 kg de uma solução multimicro + 400 g de ferro + 100 g de boro.

A condutividade estava programada no sistema para 1,0 ms/cm, sendo que a água da charca que abastece o sistema de rega tem a condutividade de 0,3 ms/cm, com redução de 0,1 ms/cm de condutividade por cada 600 W/m² de radiação disponível.

3.7. Tratamentos fitossanitários

Houve a necessidade de efetuar tratamentos preventivos e curativos para a *Botrytis cinerea* (37,5% (p/p) de ciprodinil + 25% (p/p) de fludioxonil - “Switch”) bem como a aplicação de um inseticida para tratamento de afídeos (9,5% (p/p) de lambda-cialotrina - “Karate”)

3.8. Dados climáticos

Foi colocado na estufa um *logger* do modelo ‘Mezão MZLOG06B Portugal’ no dia 28 de maio de 2013. O *logger* registou diariamente, e em intervalos de 10 minutos, a temperatura, a radiação PAR e a humidade relativa.

3.9. Delineamento experimental

3.9.1. Ensaio de produção precoce

Para o ensaio de produção precoce utilizaram-se apenas plantas das cultivares SHB ‘O’Neal’, ‘Star’ e ‘Paloma’. Da totalidade das plantas presentes na estufa foram escolhidas, aleatoriamente, por cultivar e por tratamento, 6 plantas, e impostos 4 tratamentos por cultivar.

- Tar-livre – “Testemunha ar-livre”;
- Testufa – “Testemunha dentro da estufa”;
- E1 – Tratamento de frio, com entrada a 13 dezembro e saída a 9 de janeiro;
- E2 – Tratamento de frio, com entrada a 10 janeiro e saída a 30 de janeiro.

Assim, foram efetuados dois tratamentos de frio, com duas datas para entrada de plantas em câmara de frio (figura 2). Estipularam-se as datas de entrada a 13 de dezembro de 2012 (cerca de 648 horas de frio) e 10 de janeiro de 2013 (cerca de 480 horas de frio). O período de tempo de permanência em câmara foi o suficiente para que se perfizessem as horas de frio necessário para todas as cultivares. Todas as plantas foram podadas imediatamente antes da entrada em câmara.

As plantas correspondentes ao tratamento Tar-livre foram colocadas no exterior da estufa numa posição aleatória tendo sido protegidas com rede anti pássaro. As plantas

correspondentes ao tratamento Testufa foram dispostas na estufa de acordo com a casualização realizada para os dois ensaios.

3.9.2. Ensaio de produção tardia

Para o ensaio de produção tardia foram utilizadas plantas das cultivares NHB 'Legacy', 'Elisabeth' e 'Duke' e plantas das cultivares SHB 'O'Neal', 'Star' e 'Paloma'.

As plantas dos tratamentos Tar-livre e Testufa foram as mesmas do ensaio de produção precoce, partilhando assim todas as condições relativas ao primeiro ensaio.

Neste ensaio, os tratamentos de frio consistiram na entrada de todas as plantas NHB numa só data – 14 de janeiro - e a saída em quatro datas sucessivas desfasadas 15 dias.

Foram seleccionadas aleatoriamente 6 plantas por cada tratamento de frio, dando origem a seis tratamentos por cultivar:

- Tar-livre – “Testemunha de ar-livre”;
- Testufa – “Testemunha dentro da estufa”;
- S1 – Tratamento de frio com data de saída 15 de maio de 2013;
- S2 – Tratamento de frio com data de saída 1 de junho de 2013;
- S3 – Tratamento de frio com data de saída 15 de junho de 2013;
- S4 – Tratamento de frio com data de saída 30 de junho de 2013.

Para as cultivares SHB só foram testados dois tratamentos de frio. Deste modo, foram criados os seguintes tratamentos: Tar-livre, Testufa, S3 e S4.

Todas as plantas destinadas ao ensaio foram podadas no dia de entrada na câmara de frio. A disposição das plantas dos tratamentos Tar-livre e Testufa foi a mesma do primeiro ensaio. Do mesmo modo, a disposição das plantas dos tratamentos que saíram da câmara de frio foi feita de acordo com a casualização utilizada no ensaio de produção precoce.

Quando retiradas da câmara frigorífica, (figura 3) todas as plantas foram colocadas debaixo de uma rede de ensombramento durante uma semana e posteriormente transferidas para dentro da estufa (figura 4). Este processo assegurou uma melhor adaptação das plantas às condições ambientais dentro da estufa.

3.10. Registo e Observações

3.10.1. Intensidade da poda

Em todos os ramos da lenha de poda foi medido o seu comprimento, contados os gomos florais e foliares, e medido o diâmetro do ramo na zona de corte, bem como determinado o peso fresco e peso seco da lenha e das folhas correspondentes, para que fosse feita a caracterização dos lançamentos cortados. A secagem foi feita a 70 °C, durante 48 h, em estufa de secagem (Memmert).

Na medição dos diâmetros na zona de corte foi utilizada uma craveira digital 'Mitutoyo Cd-15DC', nos pesos uma balança digital 'Mettler PM 4000' de precisão 0,01 g.

3.10.2. Determinação dos estados fenológicos

Procedeu-se à determinação semanal dos estados fenológicos de todas as plantas dos ensaios com base numa tabela ilustrada de estados fenológicos "Michigan Blueberry Facts", Michigan State University Extension (Anexo I).

Nas primeiras datas de determinação dos estados fenológicos os gomos florais encontravam-se nos estados mais precoces, no entanto, com o avançar do desenvolvimento dos mesmos, verificou-se que estes tomavam, naturalmente, a forma de cacho. No entanto, por os entrenós serem muito curtos e o desenvolvimento dos cachos não ser uniforme, a escolha do respetivo estado fenológico recaiu sobre o estado predominante.

3.10.3. Caracterização dos ramos

Foi realizada a caracterização dos ramos das plantas dos ensaios. Foi escolhido aleatoriamente um lançamento por planta e contados os gomos florais e foliares (figura 5). Nesses ramos foi medido o comprimento total dos mesmos e o comprimento relativo aos gomos florais e aos gomos foliares, assim como o diâmetro na sua origem. Na medição dos diâmetros dos lançamentos foi utilizada uma craveira digital 'Mitutoyo Cd-15DC'.

3.10.4. Determinação do amido das raízes

No ensaio de produção tardia foi feita a recolha de raízes (três plantas por cultivar, exceto na 'O'Neal' porque não havia plantas disponíveis para este ensaio) para análise do conteúdo em amido que possuíam à entrada em câmara. Nos dois últimos tratamentos de frio, S3 e S4, foram também recolhidas raízes, à saída da câmara, para que fosse possível determinar as reservas que se perderam durante o tempo em que estiveram no frio.

Antes da determinação do amido procedeu-se à preparação das amostras para análise (figura 6) através da lavagem, secagem a 40 °C durante 72 h em estufa de secagem Memmert, moagem e passagem por crivo. Também foi determinada a humidade relativa de cada amostra moída. Todas as determinações foram realizadas em quadruplicado.

A determinação do amido das raízes seguiu o método “Amyloglucosidase/ α -amylase method” do kit da Megazyme. Estas determinações foram efetuadas em 15 plantas das cultivares Paloma, Star, Duke, Elizabeth, tendo sido realizadas através dos procedimentos enzimáticos descritos no KIT (Anexo II). O kit em questão utiliza a enzima termoestável α -amilase que converte o amido, através de hidrólise, em maltodextrinas, seguido pela conversão em D-glucose através da reação com a amiloglucosidase, sendo a D-glucose oxidada a D-gluconato com a libertação de uma mole de peróxido de hidrogénio, o qual é quantitativamente medido numa reação colorimétrica utilizando peroxidase e a produção de um corante quinoneimino (figura 7). Finalmente, para o cálculo do teor de amido, foi determinada a percentagem de humidade na amostra das raízes (figura 8).

3.10.5. Colheita

A colheita foi manual para cuvetes de 0,5 kg. As colheitas tiveram início a 20 de fevereiro de 2013. No primeiro ensaio foi determinado o peso total da fruta colhida em cada planta e contabilizado o número de frutos. No segundo ensaio, devido à sua dimensão, foi determinado o peso médio de 50 frutos.

3.11. Análise Estatística

Calcularam-se as médias e erros-padrão para cada parâmetro e de seguida os dados submetidos a uma análise de variância (ANOVA) a dois fatores (cultivar e tratamento de frio), com programa Statistix 9 (Analytical Software, Tallahassee, Florida). Para os resultados em que as médias tiveram diferenças significativas na análise de variâncias, foram utilizados os testes de Tukey para comparação múltipla das médias, com $\alpha=0,05$.



Figura 1 - Planta da cv. Legacy antes e depois de se efetuar a poda.



Figura 2 - Panorâmica geral da câmara frigorífica.



Figura 3 - Plantas sob rede de ensombramento após a saída da câmara frigorífica.



Figura 4 - Aspeto da estufa do 2º ensaio



Figura 5 - Medição do comprimento floral do lançamento.



Figura 6 - Lavagem das raízes e posterior passagem por estufa de secagem.



Figura 7 - Fases do processo de determinação do amido das raízes.



Figura 8 - Fases do processo de determinação da percentagem de humidade das amostras de raízes para o cálculo da matéria seca.

4. Resultados e discussão

4.1. Primeiro Ensaio

4.1.1. Caracterização biométrica

Antes do período de crescimento e desenvolvimento e da imposição dos diferentes tratamentos realizou-se uma caracterização biométrica das diferentes cultivares. A cultivar O'Neil foi a que apresentou menor comprimento total dos ramos e menor diâmetro, assim como menor número de gomos vegetativos e florais (Quadro 1), facto que representa um menor vigor desta cultivar.

Quadro 1 - Valores médios relativos ao ramo em estudo, do comprimento ocupado por gomos vegetativos (Comprimento Vegetativo), comprimento ocupado por gomos florais (Comprimento Floral), diâmetro da base do lançamento (Diâmetro), número médio de frutos por cacho (Nº frutos), número de gomos vegetativos do lançamento (Nº Gomos Vegetativos) e número de gomos florais do lançamento (Nº Gomos Florais).

Cultivar	Comprimento		Diâmetro (mm)	Nº Gomos		Nº frutos
	Vegetativo (cm)	Floral (cm)		Vegetativos	Florais	
Star	10,6 AB	13 A	3,5 A	6,4	7,42 A	4,8
Paloma	14,8 A	8 B	3,4 A	5,5	5,38 B	5,7
O'Neal	7,3 B	6,8 B	2,5 B	5,0	4,67 B	5,1
Prob (F)	0,001	P<0,001	P<0,001	0,45	P<0,001	0,13
EP	1,92	1,37	0,47	1,1	0,57	0,23

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EP - Erro padrão da média. N = 24 amostras por cultivar.

A cultivar 'Star' apresenta um ramo em que o comprimento com gomos vegetativos é semelhante ao comprimento com gomos florais. Pelo contrário, a cultivar Paloma encontra-se menos equilibrada, sendo que grande parte do comprimento do ramo apresenta gomos vegetativos (14,8 cm). Assim, esta cultivar apresenta os gomos florais mais compactos que na 'Star', e menos que na 'O'Neil'.

Apesar de todas as cultivares terem, em média, o mesmo número de frutos por cacho e o mesmo número de gomos vegetativos, a 'Star' destaca-se por ter mais gomos florais (7,4) no ramo.

4.1.2. Fenologia

A análise fenológica, realizada semanalmente após a floração, evidencia claramente que a testemunha ao ar-livre necessita, para obter o fruto maduro, de um número de dias superior aos registados na testemunha em estufa, bem como aos restantes tratamentos, devendo-se essencialmente ao prolongamento do período que decorre do vingamento ao fruto maduro para todas as cultivares (Quadro 2).

Quadro 2 - Número de dias decorrentes da floração (F) ao vingamento (V), do vingamento ao fruto maduro (FM) e número total de dias. Tratamentos: testemunha ar-livre (Tar-livre); testemunha estufa (Testufa); Entrada 1 (E1) – frio natural + 648 h; e Entrada 2 (E2) – frio natural + 480 h.

Cultivar	Tar-livre			Testufa			E1			E2		
	F - V	V - FM	Total	F - V	V - FM	Total	F - V	V - FM	Total	F - V	V - FM	Total
Paloma	34	77	111	20	70	90	42	63	105	42	63	105
Star	42	77	119	14	69	83	49	56	105	28	63	91
O'neal	56	- ^z	- ^z	41	71	112	42	- ^z	- ^z	29	81	110

^z : não ocorreu a maturação do fruto até ao final do ensaio.

Os tratamentos de frio tiveram um efeito negativo no número de dias da floração ao vingamento, prolongando por mais tempo nas cultivares Star e Paloma. Já para a cultivar O'Neal, o tratamento de frio E2, em que as plantas estiveram 480 h dentro da câmara frigorífica, revelou-se positivo para a redução do número de dias da floração ao vingamento. A diferença de 168 h de frio entre o tratamento E1 e E2 teve influência, na cultivar Star, no período do vingamento ao fruto maduro, diminuindo a sua duração quando ocorrem mais horas de frio (E1). No entanto, o maior número de horas de frio do tratamento E1, apesar de mostrar ser irrelevante o ciclo da cultivar Paloma, promove o prolongamento do mesmo na 'Star' e 'O'Neal'.

4.1.3. Produção

Os resultados de produção revelam que a ‘Paloma’ foi a cultivar mais produtiva ao ar-livre e em estufa (Quadro 3).

Quadro 3 - Produção total por planta (g) e calibre médio, na interação cultivar x tratamento. Tratamentos: testemunha ar-livre (Tar-livre); testemunha estufa (Testufa); Entrada 1 (E1) – frio natural + 648 h; e Entrada 2 (E2) – frio natural + 480 h.

Tratamento	Cultivar	Produção (g/planta)	Calibre (g/fruto)	Médio
Tar-livre	Paloma	1151 CDE	1,24 ABCD	
	Star	803 E	1,35 ABCD	
	O’Neal	288 E	1,38 ABC	
Testufa	Paloma	2123 ABC	1,36 ABC	
	Star	1996 ABCD	1,49 AB	
	O’Neal	787 E	1,03 CD	
E1	Paloma	2192 ABC	1,58 A	
	Star	2506 A	1,61 A	
	O’Neal	936 DE	1,08 BCD	
E2	Paloma	2610 A	1,08 BCD	
	Star	2274 AB	1,23 ABCD	
	O’Neal	1257 BCDE	0,93 D	
Prob (F)		P<0,001	0,02	
EP		311,26	0,13	

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EP - Erro padrão da média. N=6 plantas por tratamento.

A cultivar Star foi a que melhor reagiu ao ambiente protegido da estufa e aos tratamentos de frio, pois aumentou a produção em paralelo com o aumento do tempo de permanência em câmara. As cultivares Paloma e O’Neil também beneficiaram do ambiente da estufa mas não de forma significativa. Os tratamentos efetuados favoreceram igualmente a ‘O’Neal’ com aumento da sua produção, em comparação com a testemunha em estufa, mas com uma quebra significativa do calibre dos frutos.

Os calibres maiores ocorrem nas cultivares Star e Paloma no tratamento E1 mas sendo significativamente diferente apenas para a Paloma no tratamento E2, revelando o efeito positivo das horas de frio no tamanho dos frutos.

Todas as cultivares anteciparam a produção quando se comparam todos os tratamentos de frio com a testemunha ao ar-livre (figuras 9, 10 e 11).

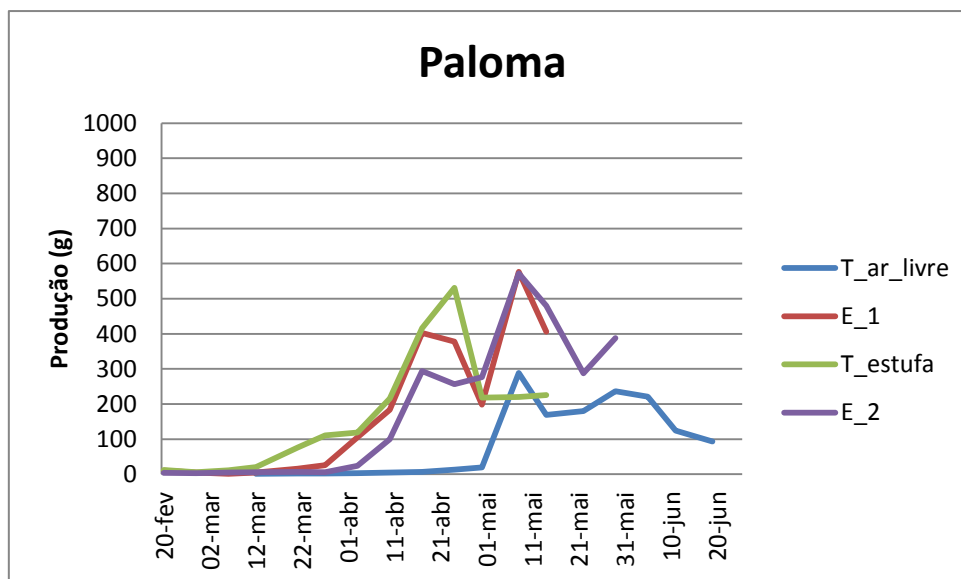


Figura 9 - Produção semanal (g) para a cultivar Paloma nos diferentes tratamentos de frio ensaiados.

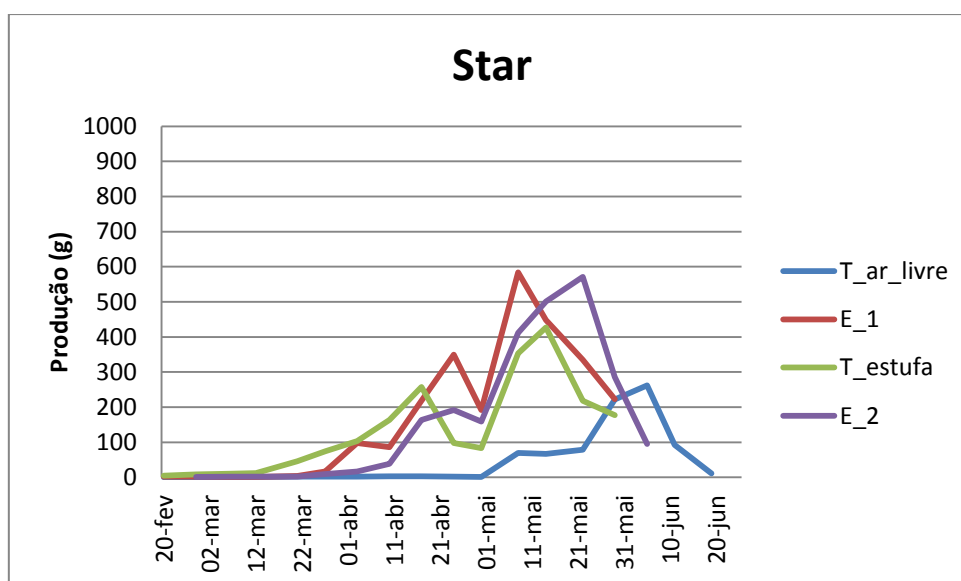


Figura 10 - Produção semanal (g) para a cultivar Star nos diferentes tratamentos de frio ensaiados.

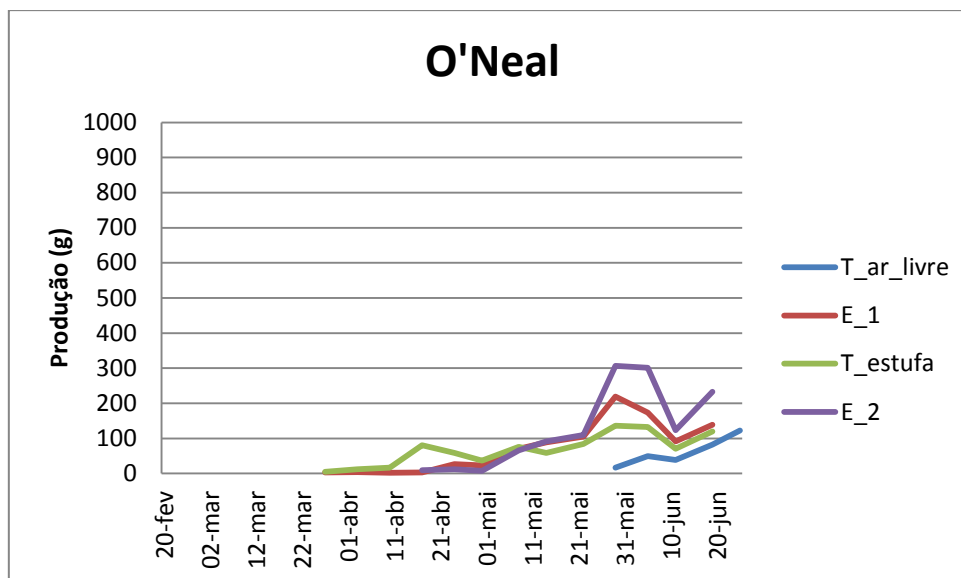


Figura 11 - Produção semanal (g) para a cultivar O'Neal nos diferentes tratamentos de frio ensaiados.

A 'Paloma' e a 'O'Neal' não beneficiaram do tratamento de frio na antecipação da produção, quando comparada com a testemunha em estufa, mas na cultivar Paloma com a colocação em ambiente protegido, antecipou a sua produção um mês perante a testemunha ao ar-livre (Quadro 4), ao contrário do que aconteceu com os tratamentos de frio. Já para a cultivar 'O'Neal', os tratamentos de frio apenas favoreceram o volume de produção (figura 11). O aumento de produção, com os tratamentos de frio, foi igualmente notório relativamente à 'Star' (figura 10).

Quadro 4 - Distribuição e concentração da produção (g). Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Entrada 1 (E1) – frio natural + 648 h; e Entrada 2 (E2) – frio natural + 480 h.

Cultivar	Tar-livre			Testufa			E1			E2		
	5%	50%	95%	5%	50%	95%	5%	50%	95%	5%	50%	95%
Paloma		28 d.			44 d.			34 d.			49 d.	
	8.mai	22.mai	5.jun	21.mar	24.Abr	14.mai	10.abr	30.abr	14.mai	10.abr	8.mai	29.mai
	317,7	666,6	1124,2	122,9	1515,4	2311,9	243,7	1222,5	2205,2	154	1393,5	2549
Star		56 d.			35 d.			53 d.			42 d.	
	10.abr	8.mai	5.jun	17.abr	8.mai	22.mai	27.mar	8.mai	29.mai	17.abr	14.mai	29.mai
	211,5	1505,4	2773	230,1	1152,8	2224,8	126,3	1052	1919,5	225,2	1488,8	2345,4
O'Neal		27 d. ^z			63 d.			50 d.			42 d.	
	29.mai	19.jun	25.jun	17.abr	22.mai	19.jun	30.abr	29.mai	19.jun	8.mai	5.jun	19.jun
	16,3	186,3	308,5	117,04	431,2	890,3	62,6	545,8	950,1	95,9	905,9	1262,3

^z – A colheita prolongar-se-ia para além da data do fim do ensaio, 25 de junho de 2013.

d - dias

No tratamento Testufa da cultivar Paloma, a colheita começou antes do que no primeiro tratamento de frio (E1), embora no último (E1) a concentração seja superior (34 dias), sendo que 95% da colheita em ambos os tratamentos foi atingida no mesmo dia. O número de dias de colheita no tratamento E2 é superior a qualquer outro tratamento desta cultivar (49 dias) (Quadro 4).

Na cultivar Star, o tratamento em que o ciclo é o mais curto é o Testufa, com 35 dias de duração da colheita, sendo que todos os outros tratamentos são mais longos. Os 50% de produção do tratamento E1 vão ocorrer no mesmo dia que no tratamento Testufa, no entanto, a testemunha apesar de começar a produzir mais tarde, vai terminar mais cedo. O tratamento E1 vai-se prolongar até coincidir o seu término com o final da produção do tratamento E2 (Quadro 4).

Ao contrário das outras cultivares em estudo, a 'O'Neal' foi a que reagiu favoravelmente às 480 h frio que lhe foram dadas, diminuindo número de dias de colheita.

4.2. Segundo Ensaio

4.2.1. Caracterização biométrica

À semelhança da 'Legacy', da 'Elizabeth' e da 'Duke', as cultivares Paloma, Star e O'Neal fizeram parte do segundo ensaio, todavia, devido à duração dos tratamentos de frio, os gomos florais abortaram e foi favorecido apenas o crescimento vegetativo. Devido a esse facto, não serão consideradas na avaliação de resultados.

Antes da exposição ao frio na câmara foi feita a avaliação biométrica das plantas do ensaio.

A cultivar Legacy é a cultivar menos vigorosa por apresentar menor comprimento total dos ramos e menor diâmetro dos mesmos. Das cultivares em estudo, é também a que tem menos gomos vegetativos e um menor número de frutos.

As plantas da cultivar 'Duke' são as que têm os lançamentos mais equilibrados, pois o comprimento do lançamento relativo aos gomos vegetativos é semelhante ao comprimento referente aos gomos florais. Pelo contrário, os lançamentos das plantas da cultivar 'Elizabeth' são os mais desequilibrados.

Quadro 5 - Valores médios relativos ao ramo em estudo, do comprimento ocupado por gomos vegetativos (Comprimento Vegetativo), comprimento ocupado por gomos florais (Comprimento Floral), diâmetro da base do ramo (Diâmetro), número médio de frutos por cacho (Nº frutos), número de gomos vegetativos do ramo (Nº Gomos Vegetativos) e número de gomos florais do ramo (Nº Gomos Florais).

Cultivar	Comprimento		Diâmetro (mm)	Nº Gomos		Nº frutos
	Vegetativo (cm)	Floral (cm)		Vegetativos	Florais	
Legacy	10,1 B	9,9	2,9 B	4,3 B	7,1 AB	4,4
Elizabeth	19,6 A	12,8	4,4 A	7,0 A	6,8 B	5,2
Duke	13,3 B	13,3	4,2 A	4,6 AB	8,8 A	4,7
Prob (F)	P<0,001	0,1	P<0,001	0,03	0,03	0,36
EP	2,23	1,67	0,23	1,08	0,77	0,57

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EP - Erro padrão da média. N = 24 amostras por cultivar.

Apesar de todas as cultivares apresentarem um número de frutos por lançamento semelhante, a 'Elizabeth' e a 'Duke' diferem significativamente entre si no número de gomos florais.

4.2.2. Fenologia

Foram determinados os estados fenológicos semanalmente e foi evidente o efeito positivo do tratamento de frio no encurtamento do ciclo produtivo. À exceção do tratamento S1, em que se verificou um ciclo de produção mais curto em todas as cultivares, nos restantes tratamentos observou-se a diminuição do número de dias para que a planta atingisse o fruto maduro conforme foi dado mais frio. Também a duração dos estados fenológicos foi reativa à quantidade a que as plantas foram sujeitas, pois foi relevante a diminuição de dias entre os mesmos (figuras 12, 13 e 14).

Devido às limitações logísticas, a recolha de dados fenológicos foi realizada semanalmente, dificultando, especialmente nos tratamentos em que o ciclo foi mais rápido, em determinar as datas de começo e final de cada estado fenológico. Por esse motivo, não estão representados todos os estados fenológicos na escala das figuras 12, 13 e 14, mas sim os estados em que na data de recolha de dados estavam os gomos florais.

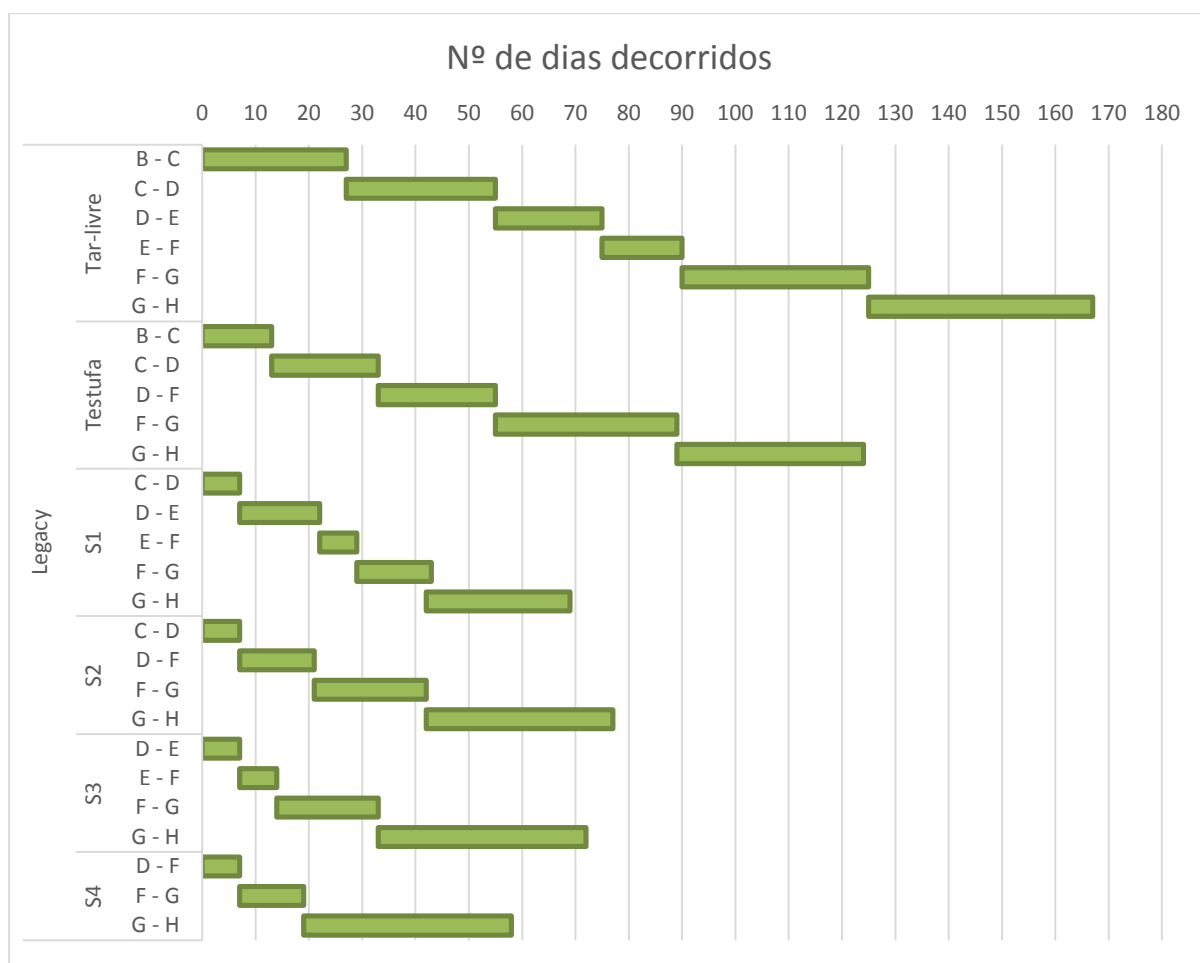


Figura 12 - Número de dias decorridos entre estados fenológicos na cv. Legacy. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.

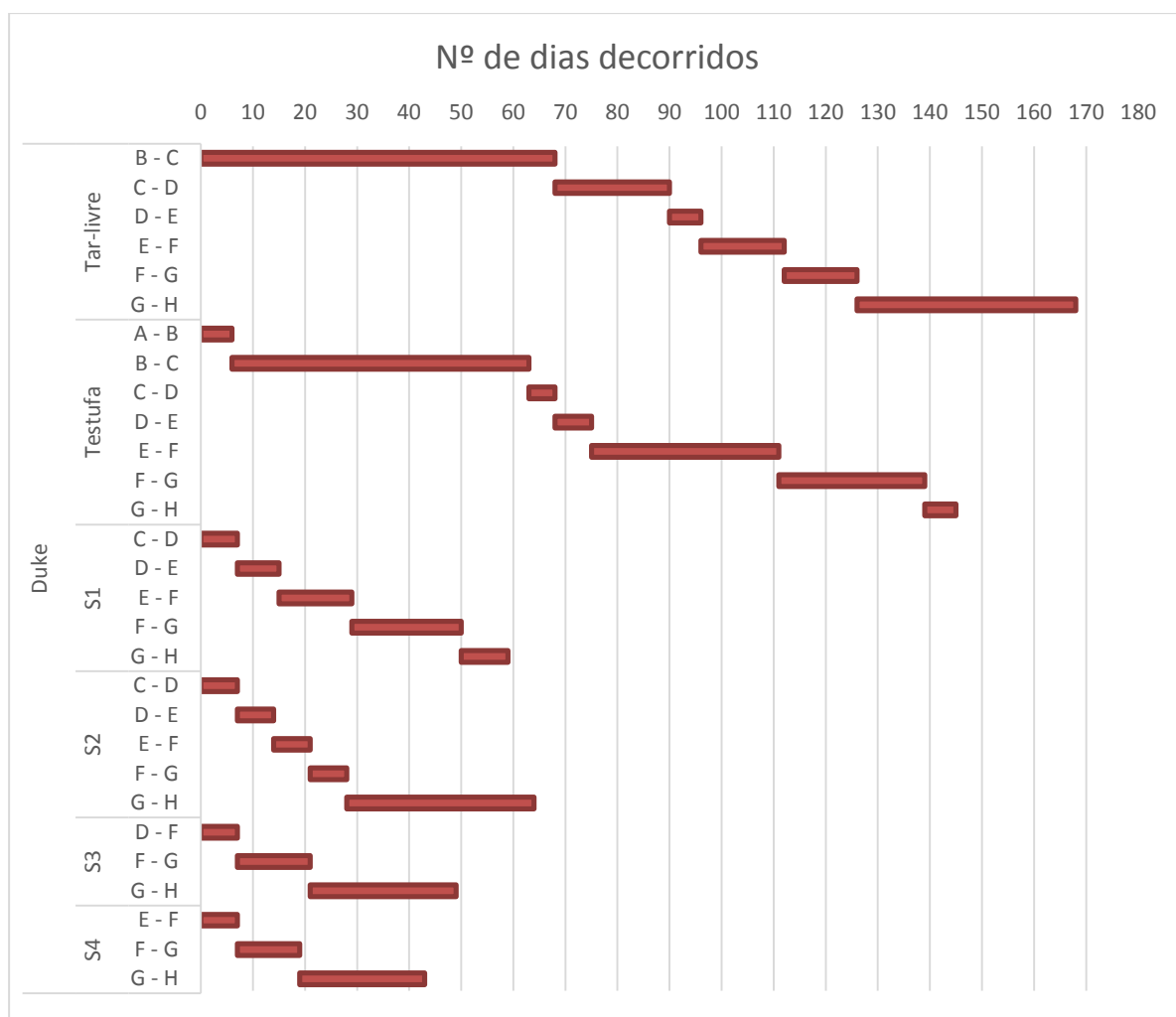


Figura 13 - Número de dias decorridos entre estados fenológicos na cv. Duke. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.

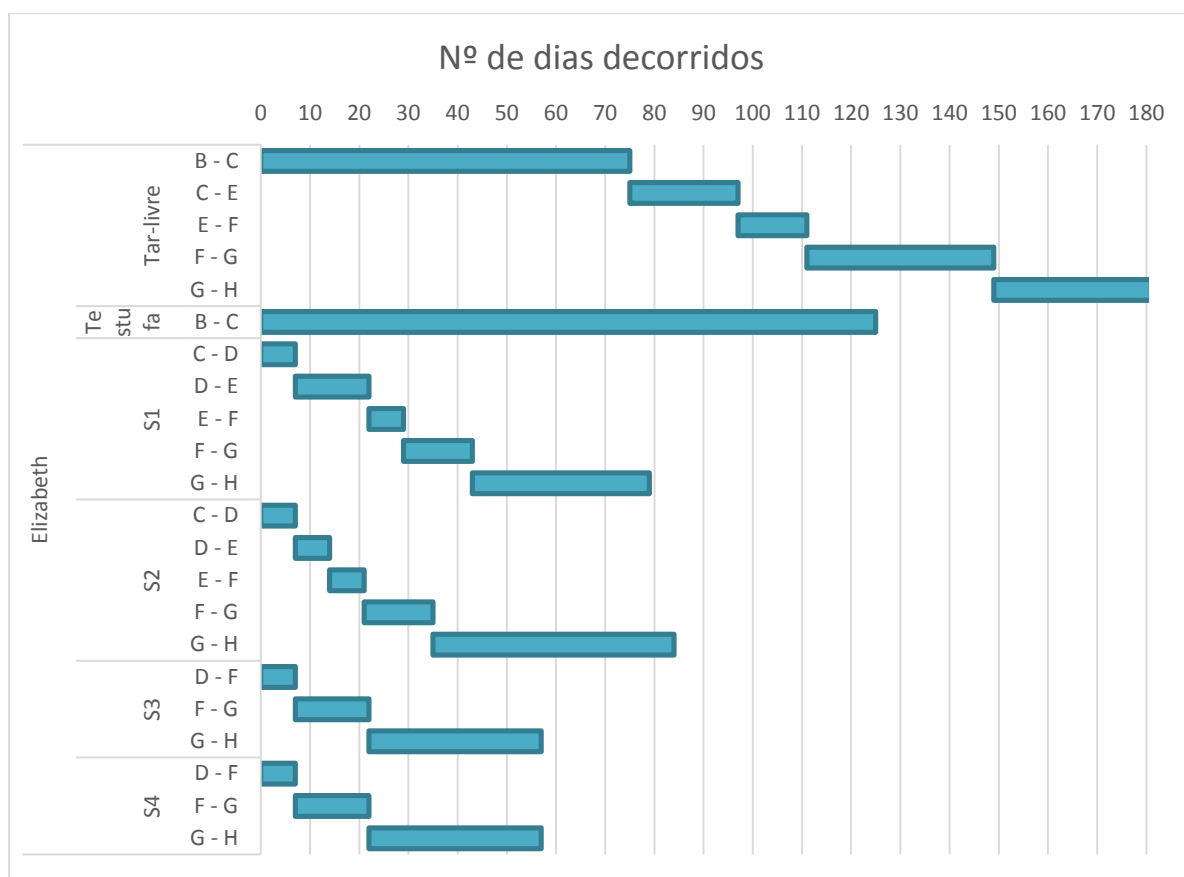


Figura 14 - Número de dias decorridos entre estados fenológicos na cv. Elizabeth. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.

No tratamento S1, a cultivar Duke foi a cultivar mais precoce quando comparada com as outras cultivares em estudo (figura 13), verificando-se na ‘Elizabeth’ e ‘Legacy’ o prolongamento do estágio correspondente ao amadurecimento do fruto (Quadro 6).

No tratamento S2, o comportamento entre cultivares foi muito semelhante, ocorrendo em todas o prolongamento do ciclo produtivo entre 7 a 10 dias (Quadro 6).

A diminuição do ciclo produtivo, através de tratamento de frio, foi mais evidente nos tratamentos S3 e S4, no entanto muitos gomos florais saíram da câmara já abrolhados, não permitindo a contabilização do número de dias da floração ao fruto maduro.

A duração dos estádios da floração ao vingamento (F-V) foi menor nos tratamentos de frio do que a verificada em qualquer uma das testemunhas, quando foi possível determinar o número de dias. Já a duração dos estádios do vingamento ao fruto maduro na cultivar Duke foi mais prolongada nos tratamentos S2, S3 e S4, quando comparada com a testemunha na estufa

(Quadro

6).

Quadro 6 - Número de dias decorrentes da floração (F) ao vingamento (V), do vingamento ao fruto maduro (FM) e número total de dias. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.

Cultivar	Tar-livre			Testufa			S1			S2			S3			S4		
	F-V	V-FM	Total	F-V	V-FM	Total	F-V	V-FM	Total	F-V	V-FM	Total	F-V	V-FM	Total	F-V	V-FM	Total
Legacy	63	77	140	42	69	111	29	41	70	21	56	77	^z	58	>58	^z	51	>51
Elizabeth	36	70	106	-	-	-	29	50	79	21	63	84	^z	50	>50	^z	50	>50
Duke	46	56	100	48	34	82	29	30	59	21	43	64	^z	42	>42	^z	36	>36

^z- os gomos das plantas saíram da câmara de frio já abrolhados.

4.2.3. Produção

O tratamento de frio S4 originou produções irrelevantes para o ensaio, sendo desconsiderado nesta análise.

Quadro 7 - Produção total por planta (g) por tratamento. Tratamentos: testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h.

Tratamento	Cultivar	Produção (g/planta)	
T_ar_livre	Legacy	2167	AB
	Elizabeth	1323	BCD
	Duke	704	D
T_estufa	Legacy	1839	ABC
	Elizabeth	986	CD
	Duke	789	CD
S_1	Legacy	2593	A
	Elizabeth	1437	BCD
	Duke	2585	A
S_2	Legacy	932	CD
	Elizabeth	1122,3	BCD
	Duke	1283,2	BCD
S_3	Legacy	419,3	D
	Elizabeth	399,2	D
	Duke	609,7	D
Prob (F)		P<0,001	
EP		302,04	

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, em que letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes; EP – Erro padrão da média. N=6 plantas por tratamento

As produções das plantas das cultivares do ensaio não foram favorecidas com a colocação dentro da estufa, à exceção da cultivar Duke que teve uma produção superior dentro da estufa sem que fosse, no entanto, significativamente diferente da produção ao ar-livre (Quadro 7).

Quando em estufa, as plantas da cultivar Legacy e Duke que foram sujeitas ao tratamentos de frio S1, obtiveram produções superiores do que quando comparadas com a testemunha em estufa ou com os tratamentos S2 e S3. As plantas da testemunha em estufa obteve produções mais elevadas, mesmo não diferindo significativamente, do que as plantas que foram expostas a 3288 e 3648 horas de frio artificial (Quadro 7).

Foi também realizada a análise de médias dos calibres neste ensaio e não diferiram entre tratamentos.

A colocação das plantas dentro da estufa antecipou cerca de um a dois meses a colheita da fruta em todas as cultivares, embora a 'Duke' tivesse sido a cultivar do ensaio que não viu diminuído o seu ciclo produtivo ao ser colocada dentro da estufa, em comparação com a testemunha de ar-livre, possivelmente por não ter completado as horas de frio necessário, comportando-se de acordo com o comportamento dos mirtilos NHB (Quadro 8).

Com os tratamentos de frio, e tendo em conta a testemunha em estufa, a 'Legacy' foi a cultivar que viu a sua produção mais atrasada e próxima do mês de setembro (S2) (Quadro 8). Pelo contrário, a cultivar Duke, não conseguiu atrasar o suficiente a sua produção, tendo aliás antecipado o término da colheita em 11 dias no tratamento S2.

Quadro 8 - Distribuição e concentração da produção (g). Tratamentos: Testemunha ao ar-livre (Tar-livre); testemunha na estufa (Testufa); Saída 1 (S1) - frio natural + 2904 h; Saída 2 (S2) – frio natural + 3288 h; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h.

Cultivar	Tar-livre			Testufa			S1			S2			S3		
	5%	50%	95%	5%	50%	95%	5%	50%	95%	5%	50%	95%	5%	50%	95%
Legacy	58 d.			49 d.			28 d.			15 d.			15 d.		
	11.jun 208	3.jul 1210,7	8.ago 2142,3	17.aaabr 119,2	14.mai 1035,3	5.jun 1943,1	8.ago 950,5	14.ago 1745,8	5.set 2593,3	21.Ago 355,5	28.Ago 660,7	5.Set 932,8	21.Ago 25,7	28.Ago 216,8	5.Set 419,3
Elizabeth	64 d.			28 d.			20 d.			14 d.					
	5.jun 179,5	29.jul 1058	8.ago 1263,3	5.jun 204,5	19.jun 531,6	3.jul 948,8	8.Ago 423,3	14.Ago 972,3	28.ago 1418,3	14.Ago 370,67	21.Ago 813,2	28.Ago 1105,8	14.Ago 964		
Duke	34 d.			70 d.			28 d.			28 d.			13 d.		
	25.jun 140,3	17.jul 533	29.jul 829,6	10.abr 45,6	5.jun 523,8	19.jun 822,8	17.Jul 87,5	29.Jul 1773,2	14.Ago 2568,2	17.Jul 126,8	8.Ago 963,2	14.Ago 1233,3	8.Ago 144,2	14.Ago 536,2	21.Ago 609,7

d - dias

4.3. Teor de amido nas raízes

Todas as cultivares em estudo perderam amido quando colocadas no frio, embora apenas as concentrações presentes na 'Elizabeth' e na 'Star' fossem significativamente diferentes nas plantas à entrada e nas duas saídas da câmara frigorífica (S3 e S4),

Comparativamente às framboesas as cultivares ensaiadas revelaram pouca acumulação de amido, com percentagens diminutas aquando da saída da câmara (Quadro 9). Segundo Oliveira (2006), as percentagens de amido em raízes finas da cultivar de framboesa 'Autumm Bliss' oscilariam entre 1,5 e 2,5% de amido após o período de dormência.

Embora não sejam significativamente diferentes entre si, as percentagens de amido entre as cultivares ensaiadas, dada a diferença registada no tratamento "Entrada" e S3 e S4, mostraram que a 'Duke' e a 'Elizabeth' têm o comportamento típico de um NHB, como plantas criófilas, e a 'Paloma' o comportamento típico de um SHB. A 'Legacy' apresenta o comportamento de uma cultivar intermédia, com características de ambos os tipos de mirtilo.

Quadro 9 - Determinação da percentagem de amido nas raízes das cultivares Duke, Elizabeth, Legacy, Star e Paloma. Tratamentos: Entrada – frio natural + 0 h de frio; Saída 3 (S3) - frio natural + 3648 h de frio; Saída 4 (S4) – frio natural + 4008 h de frio

Tratamento	Cultivar	Amido (%)
Entrada	Duke	2,012 AB
	Elizabeth	2,713 A
	Legacy	1,260 ABC
	Star	2,578 A
	Paloma	0,653 BC
S1	Duke	0,550 BC
	Elizabeth	0,423 C
	Legacy	0,738 BC
	Star	0,248 C
	Paloma	0,186 C
S2	Duke	0,243 C
	Elizabeth	0,485 BC
	Legacy	0,499 BC
	Star	0,262 C
	Paloma	0,264 C
Prob (F)		0,0158
EP		0,431

Teste de comparação múltipla de médias de Tukey para $\alpha=0,05$, letras diferentes em coluna indicam valores estatisticamente diferentes. EP - Erro padrão da média. N = 3 amostras por cultivar.

5. Conclusões

A realização do presente trabalho permitiu avaliar as potencialidades e os principais efeitos de uma técnica de alteração do ciclo da cultura do mirtilo já utilizada noutros pequenos frutos. Hoje em dia, a disponibilização de frio artificial às plantas de framboesa e amora e posterior colocação em estufa é uma prática corrente e existe muita informação disponível. O mesmo não acontece relativamente ao mirtilo.

5.1. Primeiro ensaio

As cultivares Paloma, Star e O'Neal estiveram 480 e 648 h sob frio artificial depois de atemparem ao ar-livre tendo sido avaliado o volume de produção, a capacidade de antecipação da colheita e a concentração da mesma.

Depois de impostos os dois tratamentos de frio, verificou-se que embora não estatisticamente diferente da produção em estufa, o tratamento E2 (480 h) foi o mais favorável no aumento de produção para as cultivares Paloma e O'Neal. Já a cultivar Star reagiu ao maior número de horas de frio, tendo sido o volume de produção maior no tratamento E1 (648 h) ($P > 0,05$).

Ao contrário do que seria de esperar, o fornecimento de frio artificial não promoveu a antecipação da produção em todas as cultivares. Na realidade, o facto de ter as plantas em estufa seria o suficiente para obter produções nos períodos pretendidos. No entanto, sendo a concentração da produção também um fator em estudo, observou-se que a 'Paloma' reagiu positivamente ao frio, concentrando a sua produção em 34 dias no Tratamento E1, ao contrário da Star que diluiu o seu período de colheita com os tratamentos de frio. A 'O'Neal' reagiu ao frio artificial, todavia as 480 h de frio pareceram ser as ideais para promover a concentração da produção nesta cultivar.

Com a realização deste ensaio pode concluir-se que quando se promove a acumulação de horas de frio artificialmente as plantas reagem positivamente nos volumes de produção, embora na antecipação da produção o frio tenha tido o efeito contrário. Para efeitos de na concentração da produção, os resultados mostram que nem todas as cultivares em estudo reagem positivamente ao frio dado.

Os dados obtidos mostraram-se insuficientes para tirar conclusões definitivas, revelando que a técnica para antecipação da produção de mirtilo em substrato necessita de ser novamente ensaiada, possivelmente com outras cultivares e outro número de horas de frio.

5.2. Segundo ensaio

No segundo ensaio, as cultivares Legacy, Elizabeth e Duke foram sujeitas a quatro tratamentos de frio - S1, S2, S3 e S4 - e expostas, respetivamente, a 2094, 3288, 3648 e 4008 horas de frio artificial. Posteriormente foi avaliado o volume de produção, a capacidade de atrasar a colheita e a sua concentração.

O tratamento S4, em que as plantas foram expostas 4008 h ao frio artificial, revelou ser demasiado agressivo para as plantas e, por esse motivo, estas não tiveram produções consideráveis para o ensaio. Também as plantas das cultivares do sul ('Paloma', 'Star' e 'O'Neal'), quando expostas às horas de frio dos tratamentos S1, S2, S3 e S4, perderam os gomos florais, privilegiando os gomos vegetativos. Tal efeito conduz à conclusão que estas cultivares SHB não serão as ideais para o estudo em questão.

Os tratamentos S2 e S3 na 'Legacy' e na 'Duke' tiveram um efeito negativo no volume da produção. No entanto, os melhores resultados, para estas cultivares, foram registados no tratamento S1 (2904 h), com diferenças significativas ($P < 0,05$) para a Duke comparativamente com as plantas de estufa.

Um dos objetivos do trabalho seria atrasar a produção para o mês de setembro, período que constitui uma janela de oportunidade no mercado. Esse objetivo não foi atingido pois, apesar de se ter conseguido atrasar a colheita, não foi possível obter a produção no período desejado, resultado das cultivares ensaiadas não serem suficientemente tardias. Este condicionalismo poderia ser ultrapassado com a colocação das plantas na câmara frigorífica mais tarde, mas antes que ocorresse o abrolhamento, ou ensaiando cultivares mais tardias como a 'Aurora' ou a 'Elliot'.

Como seria de esperar, as horas impostas nos tratamentos S2 e S3 do ensaio, 3288 h e 3648 h respetivamente, conduziram a produções mais concentradas nas cultivares NHB estudadas no presente trabalho.

Os SHB e os NHB têm um comportamento muito diferente quando analisamos as reservas de hidratos de carbono, nomeadamente de amido. Pela sua natureza, as cultivares NHB, 'Duke', 'Elizabeth' e 'Legacy' acumularam mais reservas do que a cultivar SHB 'Paloma'. Com necessidade de acumulação de muito poucas horas de frio, a 'Paloma' também não tem necessidade de acumular reservas de amido que serão consumidos enquanto estiver dormente. A cultivar 'Star', apesar de ser uma cultivar SHB, devido aos cruzamentos genéticos para obtenção da cultivar com cultivares NHB, apresenta a característica dos últimos de fazer mais acumulação de reservas, daí apresentar a percentagem de amido no tratamento "Entrada" semelhante à 'Duke' ou à 'Elizabeth'.

À exceção da cultivar O'Neal, todas as cultivares ensaiadas apresentaram um porte bastante vigoroso, o que pode conduzir à conclusão de que o mirtilo é uma espécie com potencial em cultura de substrato, em especial as cultivares com pouca necessidade de acumulação de reservas. Através da técnica em estudo e um plano de rega e fertilização controlado e atempado será possível manipular o ciclo da cultura sem prejuízo da planta.

As técnicas ensaiadas no presente trabalho indicam que a técnica de cultivo de mirtilo em substrato e exposição a frio artificial é uma técnica com potencial, mas que se encontra ainda, numa fase inicial de estudo, sendo por isso necessário, a continuação da realização de ensaios com resultados que permitam apurar a informação.

6. Referências bibliográficas

- Abbott, J.D. e Gough, R.E. (1987).** Seasonal development of highbush blueberry roots under sawdust mulch. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 112:60-62
- Arora, R.; Rowland, E.L.; Ogden, A.L.; Dhanaraj, A.J.; Marian, C.O.; Ehlenfeldt, M.K.; Vinyard, B. (2004).** Dehardening kinetics, bud development and dehydrin metabolism in blueberry cultivars during deacclimation at constant warm temperatures. *Journal of the American Society of Horticulture* 129:667-674
- Bal, J. (1997).** Blueberry culture in greenhouses, tunnels, and under raincovers. *Acta Horticulturae* 446:327-331
- Ballington, J.R.; Mainland, C.M.; Duke, S.D.; Draper, A.D.; e Galletta, G.J. (1990).** 'O'Neal' Southern Highbush Blueberry. *Hortscience* 25(6):711-712
- Bañados, M.P.; Strik, B. (2006).** Manipulation of the annual growth cycle of blueberry using photoperiod. *Acta Horticulturae* 715:65-71
- Baptista, M.C.; Oliveira, P.B.; Lopes-da-Fonseca, L. e Oliveira, C.M. (2006).** Early ripening of southern highbush blueberries under mild winter conditions. *Proc. 8th International Symposium on Vaccinium Culture. Acta Horticulturae* 715:191-196
- Barrau, C.; Santos, B. de los; Calvo, D.; Medina, J.J., Molina, J.M. e Romero, F. (2003).** Low chilling blueberries (*Vaccinium* spp.) studies in Huelva (Andalusia, SW Spain): present and future. *Acta Horticulturae* 649:305-308
- Beccaro, G.; Mellano, M.; Botta, R.; Chiabrando, V. e Bounous, G. (2006).** Phenolic and anthocyanin content and antioxidant activity in fruits of bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) and of highbush blueberry (*V. corymbosum* L.) cultivars in north western Italy. *Acta Horticulturae* 715:553-557
- Bernier, G.; Kinet, J.M.; Sachs, R.M. (1981).** Control of by daylength. *Physiology of flowering* 21-27
- Bernier, G.; Havelange, A.; Houssa, C; Petitjean, A.; Lejeune, P. (1993).** Physiological signals that induce flowering. *Plant Cell* 5:1147-1155
- Birkhold, K.T.; Koch, K.E.; Darnell, R. (1992).** Carbon and nitrogen economy of developing rabbiteye blueberry fruit. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 117:139-145

- Black, B.L.; Zimmerman, R.H.; Hepp, R.F. (2002).** Industrial and municipal by products as substrates to highbush blueberry production. *Acta Horticulturae* 574:267-272
- Bodson, M. (1977).** Changes in the carbohydrate content of the leaf and the apical bud of *Sinapsis* during transition to flowering. *Planta* 135:19-23
- Brewer, J. W. e Dobson, R. C. (1969).** Seed count and berry size in relation to pollinator level and harvest date for the Highbush blueberry. *Vaccinium corymbosum* J. Econ. Entom. 62:1353-1356
- Camp, W. H. (1945).** The North American blueberries with notes on other groups of *Vaccinium*. *Brittonia* 5:203-275
- Cano-Medrano, R.; Darnell, R. (1997).** Cell number and cell size in parthenocarpic vs. pollinated blueberry fruits. *Annals of Botany* 80:419-425
- Ciordia, M.; Díaz, M^a.B. e García, J.C. (2002).** Blueberry culture both in pots and under Italian-Type tunnels. *Acta Horticulturae* 574:123-127
- Damchak, K. (2009).** Small fruit production in high tunnels. *Hortechology* 19(1):44-49
- Darnell, R.; Davies, F. (1990).** Chilling accumulation, budbreak and fruit set of young rabbiteye blueberry plants. *Hortscience* 25:635-638
- Darnell, R. (1991).** Photoperiod, carbon partitioning and reproductive development in rabbiteye blueberry. *Journal of American Society for Horticultural Sciences* 16(5):856-860
- Darnell, R.L. e Williamson J.G. (1997).** Feasibility of blueberry production in warm climates. *Acta Horticulturae* 446:251-256
- Darnell, R. (2006).** Blueberry Botany/Environmental Physiology. In: N. F. Childers and P. M. Lyrene (ed.), *Blueberries for Growers, Gardeners and Promoters*. E.O. Painter Printing Company, Inc., DeLeon Springs, FL., pp. 5-6
- Darrow, G.M. (1941).** Seed size in blueberry and related species. *Proceedings of the American Society for the Horticultural Science* 38:438-440
- Darrow, G.M. (1958).** Seed number in blueberry fruit. *Proceedings of the American Society for the Horticultural Science* 72:212-214
- Draper, A.D. (1995).** In search to perfect blueberry variety. *Journal of Small Fruits and Viticulture* 3:17-20

- Durner, E.F.; Barden, J.A.; Himelrick, D.G.; Poling, E.B. (1984).** Photoperiod and temperature effects on flower and runner development in day-neutral, junebearing and everbearing strawberries. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 109:396-400
- Eck, P. (1988).** Blueberry Science. Rutgers University Press
- Edwards. T.W. Jr.; Sherman W.B.; Sharpe, R.E. (1972).** Seed development in certain Florida tetraploid and hexaploid blueberries. *Hortscience* 7:127-128
- Galletta, G. J. (1975).** Blueberries and cranberries. In *Advances in Fruit Breeding*. Eds. Janick e J. N. Moore. West Lafayette. Purdue University Press. pp.154-196
- Gaskell, M. (2004).** Field tunnels permit extended season harvest of small fruits in California. *Acta Horticulturae* 659:425-430
- Gough, R.E. e Shutak, V.G. (1978).** Anatomy and morphology of cultivated highbush blueberry. Rhode Island Agricultural Experiment Station Technical Bulletin No. 423.
- Gough, R. E., Shutak, V. G. e Hauke, R. L. (1978).** Growth and development of Highbush blueberry. I. Vegetative growth. *J. Am. Soc. Hort. Sci.* 103:94-97.
- Gough, R. E. (1991).** The Highbush Blueberry and Its Management. Food Production Press, Haworth Press, Inc. New York.
- Gough, R.E. (1994).** The Highbush Blueberry and Its Management. Food Products Press, New York
- Hall, I.V.; Craig, D.L.; Aalders, L.E. (1963).** The effect of photoperiod on the growth and flowering of the highbush blueberry (*Vaccinium corymbosum* L.). *Procedures of the American Society for Horticultural Sciences* 82:260-263
- Hancock, J.F. (2006a).** Northern highbush breeding. *Acta Horticulturae* 715:37-40
- Hancock, J.F. (2006b).** Highbush blueberry breeders. *Hortscience* 41:20-21
- Hancock, J.F. e Galletta, G.J. (1995).** Dedication: Arlen D. Draper: blueberry wizards. *Plant Breeding Reviews* 13:1-10
- Hansen, P.; Grauslund, J. (1973).** ¹⁴C-studies on apple trees. VIII. The seasonal variation and nature of reserves. *Physiology Plants* 28:24-32

Heide, O. (1997). Photoperiod and temperature interactions in growth and flowering of strawberry. *Physiology Plantarum* 40:21-26

Heidenreich, C.; Pritts, M.; Kelly, M.J.; e Demchak, K. (2007). High tunnel raspberries and blackberries. Cornell University, Dept. Hort. Publ. nº47

Hicklenton, P.; Forney, C; Domytrak, C. (2004). Row covers to delay or advance maturity in highbush blueberry. *Small Fruit Rev.* 3:169-181

Isaacs, R. e Gibbs, J. (2013). How to succeed with highbush blueberry pollination. Michigan State University Extension
http://msue.anr.msu.edu/news/how_to_succeed_with_highbush_blueberry_pollination

Jett. L.W. (2007). Growing strawberries in high tunnels in Missouri.
www.hightunnels.org/PDF/Growing_Strawberries_in_High_Tunnels.pdf .

Kadir, S.; Carey, E; e Ennahli, S. (2006). Influence of high tunnel and field conditions on strawberry growth and development. *Hortscience* 41:329-335

Kalberer, S.R.; Wisniewsky, M.; Arora, R. (2006). Deacclimation and reacclimation of cold-hardy plants: current understanding and emerging concepts. *Plant Science* 171:3-16

Kalberer, S.R.; Levya-Estrada, N.; Krebs, S.L; Arora, R. (2007). Frost dehardening and rehardening of floral buds of deciduous azaleas are influenced by genotypic biogeography. *Environmental and Experimental Botany* 59:264–275

Kappes, E.M. (1985). Carbohydrate production, balance and translocation in leaves, shoots and fruits of 'Montmonrency' sour cherry. Tese de Doutorado na Universidade do Michigan (EUA), East Lansing

Keller, J.D. e Loescher, W.H. (1989). Nonstructural carbohydrate partitioning in perennial parts of sweet cherry. *Journal of the American Society of the Horticultural Sciences* 11:435-441

Kempler, C. (2002). "Out of season" greenhouse production of raspberry and strawberry. *Acta Horticulturae* 633:459-465

Knight R.J. Jr; Scott D.H. (1964). Effects of temperature on self- and cross- pollination and fruit of four highbush blueberry varieties. *Proceedings of the American Society for Horticultural Science* 85:302-306

Kozinski, B. (2006). Influence of mulching and nitrogen fertilization rate on growth and yield of highbush blueberry. *Acta Horticulturae* 715:231-235

Krebs, S.L.; Hancock, J.F. (1988). The consequences of inbreeding on fertility in *Vaccinium corymbosum* L.. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 113:914-918

Krewer G., Ruter J., NeSmith D.S., Clark J., Otts T., Scarborough S., Mullinix B. e Hepp R.F. (2002). Performance of low cost organic materials as blueberry substrates and soil amendments. *Acta Horticulturae* 574:273-279

Krewer, G. e NeSmith, D.S. (2006). Blueberry cultivars for Georgia.
http://www.smallfruits.org/Blueberries/production/06bbcvproc_Nov0206.pdf

Lamont, W.J.; Orzolek, E.J.; Holcomb, E.J.; Crassweller, R.M.; Demchak, K.; Burkhart, E.; White, L.D.; e Dye, B. (2002). Penn State high tunnel extension program. *HortTechnology* 12:732-735

Lamont, W.J. (2005). Plastics: Modifying the microclimate for the production of vegetables crops. *HortTechnology* 15:477-481

Lamont, W.J.; McGann, M.R.; Orzolek, E.J.; Holcomb, E.J.; Demchak, K.; White, L.D.; Dye, B.; Plummer, T.; Reese, D.; Thomas, C.; Backman, P.; Rasmussen, C.; Harper, J.; Sánchez, E.; Garthe, J.; Marini, R.; Smith, D.; e Burkhart, E. (2006). High tunnel Production Manual. 2nd Edition. The Pennsylvania State University, College Agr. Sci. Ext. Publ. CP02-2.

Lamont, W.J. (2009). Overview of the use of hightunnels worldwide. *HortTechnology* 19:25-29

Lang, G.A.; Early, J.D.; Martin, G.D.; Darnell, R.L. (1987). Endo-, para- and ecodormancy: physiological terminology and classification for dormancy research. *Hortscience* 22:371-377

Lang, G.A.; Danka, R.G. (1991). Honey-bee-mediated cross- versus self-pollination of 'Shapblue' blueberry increases fruit size and hastens ripening. *Journal of the American Society for Horticultural Science* 116:770-773

Lang, G.A. (2009). Hightunnel tree fruit production. *HortTechnology* 19:50-55

Levitt, J. (1980). Responses of plants to environmental stresses. 2nd edition. Academic Press volume 1

- Lopes-da-Fonseca, L. e Oliveira, P.B. (2001).** A produção de mirtilos em Portugal. Actas do I Colóquio Nacional da Produção de Morangos e Outros Pequenos Frutos. pp.163-164
- Lopes-da-Fonseca, L. e Oliveira, P.B. (2007).** A planta de mirtilo – Morfologia e fisiologia. Divulgação Agro 556.
- Lyrene, P.M. (2008).** Breeding southern highbush blueberries. Plant Breeding Reviews 30:354-414
- Lyrene, P.M. e Sherman, W. B. (2000).** ‘Star’ Southern Highbush Blueberry. Hortscience 35:956-957
- Mainland, C.M. e J.W. Tucker (2002).** Blueberry health information – Some new mostly review. Proc. 7th International Symposium on Vaccinium Culture. Acta Horticulturae 574:39-43
- Mainland, C.M. (2012).** Frederick V. Coville and the History of North American Highbush Blueberry Culture. International Journal of Fruit Science 12:4-13
- Moore, J.N.; Reynolds, B.D.; Brown G.R. (1972).** Effects of seed number, size and development on fruit size of cultivated blueberries. Hortscience 7:268-269
- Moyer, R.; Hummer, K.; Finn, C.; Frei, B.; e Wrolstad, R. (2002).** Anthocyanins, phenolics, and antioxidant capacity in diverse small fruits: Vaccinium, rubus, and ribes. Journal Agr. Food Chem. 50:519-525
- Ochmian, I.; Grajkowski, J.; Skupien, K. (2010).** Effect of substrate type on the field performance and chemical composition of highbush blueberry cv. Patriot. Agricultural and Food Science 19:69-80
- Ögren, E. (1996).** Premature dehardening in *Vaccinium myrtillus* L. during mild winter: a cause for winter dieback. Functional Ecology 10:724-732
- Ögren, E. (1997).** Relationship between temperature, respiratory loss of sugar and premature dehardening in dormant Scots pine seedlings. Tree Physiology 17:47-51
- Oliveira, P. (2006).** A produtividade e a acumulação de reservas em framboesas remontantes (*Rubus idaeus* L.) em resposta à população, data e intensidade de corte dos lançamentos do ano. Tese de doutoramento em Engenharia Agronómica, ISA, Lisboa.
- Oliveira, C.M. e Priestley, C.A. (1988).** Carbohydrate reserve in deciduous fruit trees. Horticultural Reviews 10:403-430

- Ozeki, M. e Tamada, T. (2006).** The potentials of forcing culture of southern highbush blueberry in Japan. *Acta Horticulturae* 715:241-246
- Parrie, E.J. (1990).** Pollination of hybrid southern highbush blueberries (*Vaccinium corymbosum* L.). M.S. thesis, Louisiana State University, Baton Rouge, Louisiana.
- Pettersen, H. (1972).** The effect of the temperature and daylength on shoot growth and bud formation in azaleas. *Journal of the American Society for Horticultural Sciences* 97:17-23
- Pliszka, K. (1997).** Overview in *Vaccinium* production in Europe. *Acta Horticulturae* 446:49-52
- Polomski, B. e Reighard, G. (2013)** Blueberry. In: Small Fruits in the Home Garden. North Carolina Master Gardener Manual, NC State University.
- Prior, R.; Cao, G.; Martin, A.; Sofic, E.; McEwen, J.; O'Brien, C.; Lischner, N.; Ehlenfeldt, M.; Kalt, W.; e Krewer G. (1998).** Antioxidant capacity as influenced by total phenolic and anthocyanin content, maturity, and variety of *Vaccinium* species. *J. Agr. Food Chem.* 46:2686-2693
- Quinlan, J.D. e Preston A.P. (1968).** Effects oh thinning blossom and fruitlets on growth and cropping of 'Sunset' apple. *Journal of Horticultural Sciences* 43:373-381
- Renquist, S. (2005).** An evaluation of blueberry cultivars grown in plastic tunnels in Douglas County, Oregon. *International Journal of Fruit Science* 5:31-39
- Reiss, E., Both A.J., Garrison S., Kline W. e Sudal J. (2004).** Season extension for tomato production using hightunnels. *Acta Horticulturae* 659:153-160
- Retamales, J. e Hancock, J. (2012).** Blueberry Taxonomy and Breeding. In: Blueberries. CABl, pp.19-49
- Rowland, L.J.; Ogden, E.L.; Rajeev, A.; Chon-Chong, L.; Lehman, J.; Levi, A.; Panta; G.R. (1999).** Use of blueberry to study genetic control of chilling requirement and cold hardiness in woody perennials. *Hortscience* 34:1185-1191
- Sharp, R.H. e Darrow G.M. (1959).** Breeding blueberries for de Florida climate. *Proceedings of the Florida State Horticulture Society* 72:308-311
- Sonsteby, A. (1997).** Short-day period and temperature interactions on growth and flowering of strawberry. *Acta Horticulturae* 439:609-616

Spann, T. (2001). Environmental influences on flower bud initiation in *Vaccinium* species. MS thesis of the University of Florida, Gainesville.

Spann, T.; Williamson, J.G.; Darnell, R. (2003). Photoperiodic effects on vegetative and reproductive growth of *Vaccinium darrowi* and *V.corymbosum* interspecific hybrids. Hortscience 38:192-195

Stassen, P.J., Strydom, D.K. e Stindt, H.W. (1981). Seasonal changes in carbohydrate fractions of young 'Kakamas' peach trees. Agroplante 13:47-53

Taulavuori, K; Laine, K.; Taulavuori, E.; Pakonen, T.; Saari, E. (1997). Accelerated dehardening in bilberry (*Vaccinium myrtillus* L.) induced by a small elevation in air temperature. Environment Pollution 98:91-95

Tromp, J. (1983). Nutrient reserves in roots of fruit trees, in particular carbohydrates and nitrogen. Plant & Soil 71:401-413

Vander Kloet, S.P. (1980). The taxonomy of highbush blueberry, *Vaccinium corymbosum*. Canadian Journal of Botany 58:1187-1201

Vander Kloet, S.P. (1988). *The Genus Vaccinium* in North America. Publication No.1828 Research Branch of Agriculture Canada, Ottawa

Waterer, D.R. (2003). Yields and economics of hightunnels for production of warm-season vegetable crops. HortTechnology 13:339-343

Wells, O.S. e Loy, J.B. (1993). Row covers and high tunnels enhance crop production in the northeastern United States. HortTechnology 3:92-94

White, E.; Clarke, J.H. (1939). Some results of self-pollination of the highbush blueberry at Whitesbog, NJ. Proceedings of the American Society for Horticultural Science 36:305-309

Wisniewski, M.; Bassett, C.; Gusta, L. V. (2003). An overview of cold hardiness in woody plants: seeing the forest trees. Canadian Journal of Botany 81:1247-1266

Worley, R.E. (1979). Fall defoliation date and seasonal carbohydrate concentration of pecan wood tissue. Journal of the American Society for Horticultural Science 104:195-195

Wright, G. (1993). Performance of southern highbush and rabbiteye blueberry on the Corindi Plateau N. S. W. Australia. Acta Horticulturae 346:141-148

Xiao, C.L.; Chandler, C.K.; Price, J.F.; Duval, J.R.; Mertely, J.C.; e Legard, D.E. (2001). Comparison of epidemics of botrytis fruit rot and powdery mildew of strawberry in large plastic tunnel and field production systems. Plant Disorders 85:901-909

Xin, Z.; Browse, J. (2000). Cold comfort farm: the acclimation of plants to freezing temperatures. Plant Cell Environment 23:893-902

Cibergrafia:

http://www.siro.pt/UserFiles/File/Artigos/1215/Siro_cido.pdf

<http://www.aces.edu/pubs/docs/A/ANR-0904/ANR-0904.pdf>

http://www.technoblock.com/PROD/VT_CAT%2008-A.pdf

http://blueberries.msu.edu/growing_blueberries/growth_stages_table

http://blueberries.msu.edu/uploads/files/Blueerry_CycleOfGrowth_Mark.pdf - MSU Extention, 2013

<http://ncblueberryjournal.blogspot.pt/2011/08/blueberry-cultivar-legacy.html> - 23-Out-13

http://www.ine.pt/xportal/xmain?xpid=INE&xpgid=ine_publicacoes&PUBLICACOESTipo=ea&PUBLICACOEScolecao=107660&selTab=tab0&xlang=pt – Estatísticas Agrícolas 2012

<http://epp.eurostat.ec.europa.eu/portal/page/portal/eurostat/home> - Eurostat - Agriculture and fisheries (2014).

<http://faostat3.fao.org/faostat-gateway/go/to/home/E> - FAO Stat (2014).

<http://www.gpp.pt/cot/> - Gabinete de Planeamento e Políticas – Anuário Agrícola 2012 e 2013 (2014).

<http://www.gpp.pt/cot/> - SIMA - Sistema de Informação de Mercados Agrícolas (2014).

ANEXO I – Tabela ilustrada de estados fenológicos



Estado fenológico A – Gomo dormente

Gomo floral sem inchaço visível, com as escamas fechadas firmemente e sem sinais de crescimento.



Estado fenológico B – Gomo inchado

Gomo floral com os primeiros sinais de crescimento, em que as escamas exteriores começam a separar-se da ponta revelando as escamas interiores de cor mais pálida.



Estado fenológico C – Cacho fechado

As flores apresentam-se perceptíveis e individualizadas no cacho floral.



Estado fenológico D – Gomo floral desenvolvido

As flores do gomo estão totalmente desenvolvidas. As corolas são de cor branca e ainda estão fechadas.



Estado fenológico E – Floração

A maioria das flores do cacho encontra-se aberta.



Estado fenológico F – Fruto verde

Os frutos verdes estão em expansão.



Estado fenológico G – Crescimento dos frutos

Os frutos abrandam o seu crescimento e tomam a cor de verde pálido.



Estado fenológico H – Amadurecimento dos frutos

Os primeiros frutos começam a amadurecer.

ANEXO II – Protocolo do Método “Amyloglucosidase/ α -amylase”

